

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA APLICADA



**POLÍMEROS HIPERRAMIFICADOS
FLUORESCENTES.
SÍNTESIS, PROPIEDADES Y
APLICACIONES COMO SENSORES**

SANDRA MEDEL FERNÁNDEZ



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

Departamento de Química Macromolecular Aplicada

Madrid, 2014

TESIS DOCTORAL

**POLÍMEROS HIPERRAMIFICADOS
FLUORESCENTES.
SÍNTESIS, PROPIEDADES Y
APLICACIONES COMO SENSORES**

Sandra Medel Fernández

Directora: Dra. Paula Bosch Sarobe, Investigador Científico

Madrid, 2014

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros

Departamento de Química Macromolecular Aplicada

Grupo de Fotoquímica de Polímeros



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Facultad de Ciencias

Departamento de Química Física Aplicada



TESIS DOCTORAL

**POLÍMEROS HIPERRAMIFICADOS
FLUORESCENTES.
SÍNTESIS, PROPIEDADES Y
APLICACIONES COMO SENSORES**

Autora: Sandra Medel Fernández

Directora: Dra. Paula Bosch Sarobe

Tutora: Dra. Paloma Calle Díez

Firma del tribunal calificador:

Presidente: Dr. José Manuel López Poyato

Vocal: Dra. Marina Galiá Clua

Vocal: Dr. José Miguel García Pérez

Vocal: Dr. Marco Sangermano

Secretario: Dra. M^a del Carmen de la Torre Egido

Madrid, de de 2014

Esta Tesis Doctoral, titulada “POLÍMEROS HIPERRAMIFICADOS FLUORESCENTES. SÍNTESIS, PROPIEDADES Y APLICACIONES COMO SENSORES”, ha sido realizada en el Departamento de Química Macromolecular Aplicada del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del CSIC, bajo la dirección de la Doctora Paula Bosch Sarobe, para optar al grado de Doctor en Química.

La financiación de este trabajo de investigación ha provenido del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN): beca de Formación de Personal Investigador (FPI) **BES-2010-040128** asociada al Proyecto de Investigación **MAT2009-096741**.

“The last century has witnessed the great impact of linear polymers on human life, so will this century in the form of the impact of hyperbranched polymers.”

Chao Gao, Holger Frey, Deyue Yan.

Probablemente esta sea la parte de la Tesis que siempre he tenido más ganas de escribir. Son muchas, innumerables, las personas que me han ayudado y apoyado durante estos años, y a todas ellas les estoy profundamente agradecida. Podría incluso hacer capítulos y escribir una novela de aventuras. En el laboratorio la limpieza y el orden fueron mis grandes aliados, así que voy a empezar por el principio de toda historia: “Érase una vez...”.

Mis directores de Trabajo de Máster, Isabel y Rodrigo, a los que quiero agradecer la oportunidad que me brindaron durante ese año, junto con mi compañero Jose. Fue un verdadero placer colaborar y aprender con vosotros, un honor formar parte de vuestro grupo, y un privilegio que me empujarais generosamente a embarcarme en una carrera investigadora.

Con ellos extendiendo mi gratitud a todo el Departamento de Química-Física del ICTP, formado por magníficas personas, tanto en lo profesional y académico, como en lo personal. Aunque no hubiese llegado hasta aquí si no hubiera sido por mi gran amiga Raquel. Qué fácil fue todo contigo ahí, trabajando duro pasos adelante, allanándome el camino que yo también quería recorrer. Gracias por mostrarme siempre dónde estaba el horizonte.

Y así, inició la aventura “Tesis Doctoral”, con los compañeros de laboratorio Íñigo, Jesús, Levi y Mario, a los que agradezco los ratos de aprendizaje, compañía y diversión, y en especial a Gema, por ser una referencia crucial durante el arranque del primer año, por transmitirme valores tan importantes en la ciencia como el esfuerzo, la perseverancia, la honestidad o la ética. A los jefes del grupo, Fernando, Paula y Teresa, por darme la oportunidad de participar en sus proyectos. Así como a los compañeros de otros laboratorios, en especial a Pedro, Camino, Quique y Mario, que me han echado una mano siempre que lo he necesitado.

Me gustaría agradecer también a los profesores Elvira, por la tentativa con los supercríticos, y a Lozano, por su siempre inmediata disposición a ayudar. Y a las personas del sótano, desde Carolina, siempre capaz de encontrar una solución a tu problema, a Alberto, convirtiendo en tangibles nuestros diseños, o Pablo de resonancia, y en extensión, a todos los técnicos del ICTP que tantos análisis me han facilitado.

Capítulos fundamentales de una aventura como esta son las estancias breves.

Vorrei ringraziare il Professore Marco Sangermano per la guida e il supporto durante il mio soggiorno a Torino, sia accademico e personale. Un ringraziamento di cuore va ai colleghi ed agli amici che ho incontrato sul percorso di questa esperienza indimenticabile, da Mario a Fra, David, un angelo custode, Igna, Fede, Sophie, Florence, Giovanna, Annalisa, Julia (e il tuo pc), Federica e anche Aldo, perche non è così comune sentire i benvenuti dal primo giorno, le risate con la gente del trek, e a tutti che siete venuti a farmi visita. Grazie a tutti! In più, porto nel mio zaino un po' di questa lingua così bella e carina: l'italiano, e un bello sorriso ogni volta che mi ricordo di questa splendida città e la imponente catena innevata che voi chiamate Le Alpi.

Y de los Alpes a las Rocky Mountains, tuve la fortuna de vivir una segunda estancia en el extranjero.

I would like to thank Professor Jeffrey Stansbury for giving me the opportunity to join his group and Professor Chris Bowman's group at the University of Colorado in Boulder during 2013. I am also grateful to Dr. Parag, for helping me with the photorheometer studies and for our helpful discussions; to JianCheng, for your assistance with the nanogels and your kind help in the lab; to Alan, who shared with me all the detection merchandising and interesting long talks on fluorescence; to Caroline, for teaching me how to use a tensometer; to Steven, for the linometer measurements. A very special thanks to Smiley's people and in particular to Antonio, for being a source of friendship and making me feel at home.

Aunque uno no se siente realmente en casa hasta que no está rodeado de su familia. Gracias a toda mi familia, por arroparme y protegerme. A mi padre, Anabel y Julia, por los buenos propósitos y las nuevas oportunidades. A la modern family, por siempre grande y unida, con mención especial a los Papis, por su apoyo incondicional y casi irracional en todo lo que hago, y a Yasmina, por sus útiles consejos, por entenderme. A mi madre, pilar fundamental en mi vida, que entre otros muchos me inculcó el valor del esfuerzo, y de la que admiro su abnegación, su constancia y su espíritu luchador.

Algunos familiares lo son desde que naces y otros los eliges por el camino. Me gustaría darle las gracias a Iván, por hacer las veces de mi hermano mayor. A mi amigo Julio, por estar Siempre Listo. Y a Merce porque, como leí una vez, “la verdadera amistad es como la fluorescencia, se ilumina cuando todo está oscuro”.

Sin duda estos años han pasado por mi tanto como por Sebas. Gracias por ser mi compañero de viaje en esta y otras tantas aventuras, pasadas y venideras.

Por último, me gustaría dedicarle un puesto de honor en los agradecimientos a la Dra. Paula Bosch. Mi más sincero agradecimiento, por tu apoyo continuo, en persona y en la distancia, por guiarme y asesorarme, por darme espacio para crear, por tu dedicación, por corregirme sin acritud, por el trabajo en equipo, por tu siempre presente motivación y actitud positiva. Sabía de la importancia del director de tesis, pero no de la profundidad y extensión de su significado. Aunque siempre te he llamado jefa, para mi has sido una gran directora, GRACIAS Paula. Contigo termina esta historia con final feliz, aunque sería todo un placer encontrar oportunidades futuras para volver a trabajar contigo.

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	3
1.1. Fluorescencia	3
1.1.1. Conceptos generales	
1.1.2. Sondas fluorescentes	
1.1.3. Aplicación en Ciencia de Materiales	
1.2. Polímeros dendríticos	21
 2. OBJETIVOS	 29
 3. PARTE EXPERIMENTAL	 33
3.1. Materiales	33
3.2. Métodos y técnicas instrumentales	35
3.2.1. Análisis elemental	
3.2.2. Espectroscopia de masas ESI y APCI	
3.2.3. Espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)	
3.2.4. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	
3.2.5. Cromatografía de permeación en gel (GPC)	
3.2.6. Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis)	
3.2.7. Espectroscopia de fluorescencia	
3.2.8. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)	
3.2.9. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	
3.2.10. Análisis termogravimétrico (TGA)	
3.2.11. Acoplamiento Calorimetría diferencial de barrido (DSC)-Fluorímetro	
3.2.12. Acoplamiento Reómetro-IR-Fluorímetro	
3.2.13. Acoplamiento Tensómetro-IR-Fluorímetro	
3.2.14. Acoplamiento <i>Linometer</i> -IR	
3.2.15. Sistemas de irradiación	

3.3. Síntesis y caracterización

55

3.3.1. Funcionalización de cromóforos

3.3.1.1. Síntesis de 5-(Dimetilamino)-*N*-(2-propinil)-1-naftalensulfonamida (DANSino)

3.3.1.2. Síntesis del dansilo modelo (ModDANS)

3.3.1.3. Síntesis *N*-dansil-2-aminoetil metacrilato (DANSMA)

3.3.1.4. Síntesis de 4-Nitro-*N*-propargil-1,8-naftalimida

3.3.1.5. Síntesis de 4-(*N,N*-dimetilaminoetilen)amino-*N*-propargil-1,8-naftalimida (NAFTino)

3.3.1.6. Síntesis de 9-aminopropargil acridina (ACRIDino)

3.3.2. Funcionalización de polímeros hiperramificados

3.3.2.1. Síntesis de P1000-N₃

3.3.2.2. Síntesis de P1000-DANS

3.3.2.3. Síntesis de H20-N₃

3.3.2.4. Síntesis de H20-DANS

3.3.2.5. Síntesis de P1000-NAFT

3.3.2.6. Síntesis de P1000-ACRID

3.3.3. Preparación de filmes epoxi funcionalizados

3.3.4. Preparación de filmes dopados

3.3.5. Funcionalización de nanopartículas de sílice

3.3.6. Síntesis de nanogeles

4. SÍNTESIS Y ESTUDIO FOTOFÍSICO DE LAS SONDAS FLUORESCENTES EN DISOLUCIÓN

83

4.1. Introducción

83

4.2. Funcionalización de cromóforos

84

4.2.1. Síntesis de DANSino

4.2.2. Síntesis de ModDANS

4.2.3. Síntesis de DANSMA

4.2.4. Síntesis de NAFTino

4.2.5. Síntesis de ACRIDino

4.3. Funcionalización de polímeros hiperramificados

89

4.3.1. Funcionalización de P1000

4.3.2. Funcionalización de H20

4.4. Caracterización fotofísica	95
4.4.1. Estudio solvatocrómico	
4.4.2. Rendimientos cuánticos de fluorescencia	
5. ESTUDIO DE LAS SONDAS COMO SENSORES DE ESPECIES A^{n+} EN DISOLUCIÓN	123
5.1. Sensibilidad de las sondas a metales (M^{n+})	123
5.2. Sensibilidad de las sondas a especies ácidas (H^+)	129
6. REACCIONES DE FOTOPOLIMERIZACIÓN DE MONÓMEROS ACRÍLICOS. ESTUDIO Y SEGUIMIENTO DEL PROCESO MEDIANTE FLUORESCENCIA Y CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO	141
6.1. Introducción	141
6.2. Cinética de la reacción de polimerización radical fotoiniciada	142
6.3. Fotopolimerización de monómeros metacrílicos	145
6.3.1. Copolimerización de monómeros mono- y difuncionales	
6.3.2. Polimerización de dimetacrilatos con longitud de cadena variable	
7. APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN MEDIOS POLIMÉRICOS	175
7.1. Introducción	175
7.2. Filmes dopados con sondas	177
7.2.1. Sensibilidad de filmes dopados con las sondas derivadas de dansilo y naftalimida a la polaridad del disolvente	
7.2.2. Sensibilidad de filmes dopados con las sondas derivadas de naftalimida a metales en disolución	
7.2.3. Sensibilidad de filmes dopados con las sondas derivadas de naftalimida y acridina a vapores ácidos	
7.3. Filmes con sondas ancladas	194
7.3.1. Sensibilidad de filmes epoxi funcionalizados	

7.4. Funcionalización y caracterización de nanopartículas de sílice con sondas fluorescentes	204
7.4.1. Sensibilidad de las partículas a metales (M^{n+}) y especies ácidas (H^+) en disolución	
7.4.2. Preparación de filmes con las partículas modificadas	
 8. APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN RESINAS COMPUESTAS	 217
8.1. Introducción	217
8.2. Síntesis y caracterización de nanogeles	219
8.3. Formulación de resinas	221
8.4. Fotopolimerización de las resinas, estudio de sus propiedades y seguimiento del proceso por fluorescencia	225
 9. CONCLUSIONES	 239

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES.

1.1. FLUORESCENCIA.¹

1.1.1. Conceptos generales.

La luminiscencia es la emisión de luz que se produce desde los estados electrónicamente excitados de cualquier sustancia excitada por la absorción de un fotón de luz. La fluorescencia y la fosforescencia son dos casos particulares de luminiscencia, dependiendo de la naturaleza del estado excitado desde el que se producen.

El término **fluorescencia** fue usado por primera vez en 1852 por el científico británico Sir George G. Stokes, después de observar la luminiscencia azul en el mineral fluorita.

Los procesos que se producen entre la absorción y la emisión de luz se suelen esquematizar en el diagrama de Jablonski (Figura 1.1). Este diagrama ilustra los diversos procesos moleculares que pueden ocurrir entre el estado fundamental y los estados excitados, y son el punto de partida para discutir la absorción y la emisión de luz.

¹ Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd ed.; Springer: New York, 2006.

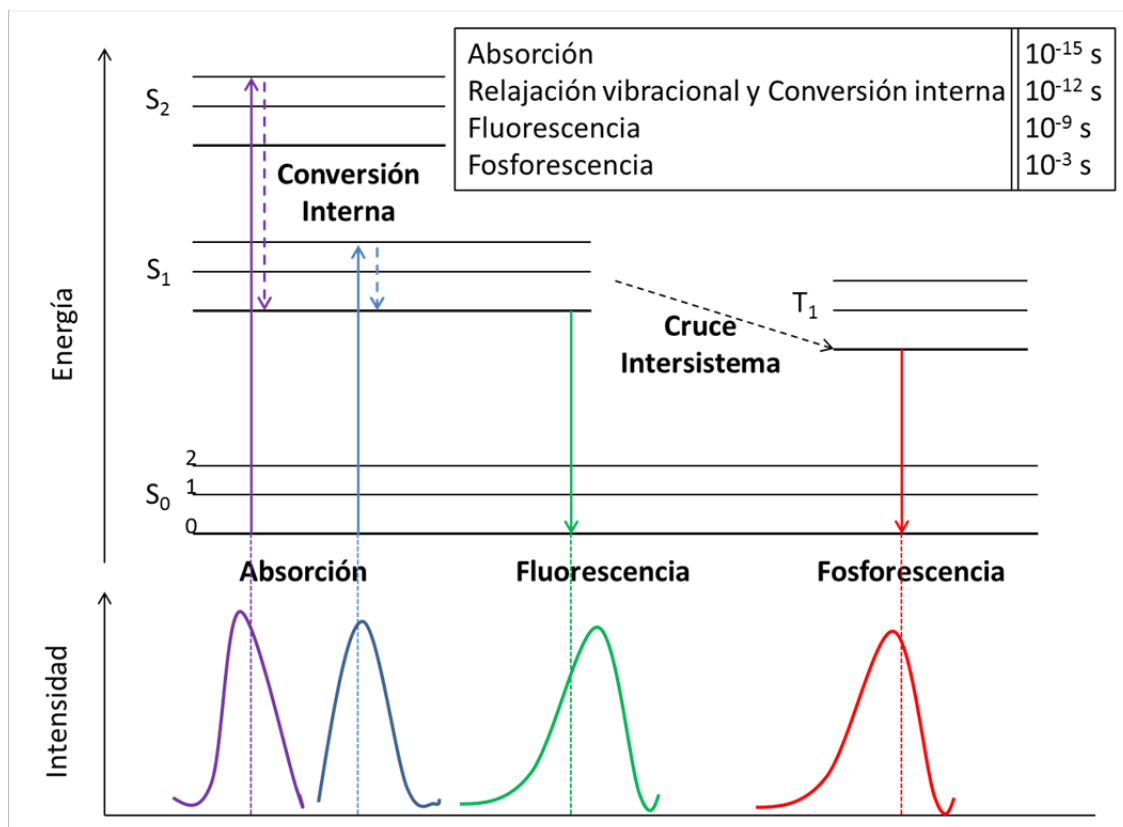
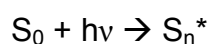


Figura 1.1. Una de las representaciones del diagrama de Jablonski, que ilustra los procesos probables de excitación y relajación. Las flechas sólidas indican las transiciones radiativas que ocurren por absorción (morado y azul) o emisión (verde para fluorescencia y rojo para fosforescencia) de un fotón. Las flechas discontinuas indican transiciones no radiativas, como la conversión interna o como el cruce intersistema (T_1).

Cuando una molécula en su estado electrónico fundamental S_0 absorbe un fotón de radiación electromagnética, incrementa su energía en una cantidad igual a la del fotón absorbido, promoviendo el salto de un electrón a estados excitados singletes de energía superior (S_1 , S_2 , ..., S_n), en los cuales los espines electrónicos siguen apareados. Inmediatamente después de la absorción, las moléculas electrónicamente excitadas se relajan y los electrones ocupan los niveles vibracionales menos energéticos del estado excitado. El proceso de absorción puede describirse como una reacción elemental de acuerdo con la expresión:



En el estado excitado, una molécula es energéticamente inestable y debe regresar a su estado fundamental. La pérdida de energía tiene lugar mediante:

- Procesos radiativos, que implican la emisión de radiación electromagnética desde el estado electrónicamente excitado para regresar al estado electrónico fundamental.
- Procesos no radiativos, en los que la población del estado inicialmente excitado se transfiere a otro sin que le acompañe ninguna emisión.
- Procesos de desactivación por transferencia de energía, electrones o protones, a moléculas que están próximas.

Se pueden distinguir dos tipos de **radiaciones radiativas**: la fluorescencia y la fosforescencia. El fenómeno de fluorescencia implica la emisión radiativa desde un estado excitado (S_1^*) de igual multiplicidad que el estado inferior de la transición (S_0). La fluorescencia es la emisión de fotones que acompaña a la relajación $S_1^* \rightarrow S_0$. La fosforescencia tiene lugar desde el primer estado excitado triplete (T_1), luego se produce entre estados de distinta multiplicidad.

El camino más probable hacia el estado fundamental es el que minimiza el tiempo de vida media del estado excitado. Si la desactivación por fluorescencia es rápida con respecto a los procesos no radiativos, se observa tal emisión. En cambio, si un camino sin radiación tiene una constante de velocidad favorable, la fluorescencia no tiene lugar o es menos intensa.

El proceso de absorción de luz es extremadamente rápido, del orden de los femtosegundos (10^{-15} s). Después de la absorción de luz, la molécula excitada va a parar al nivel vibracional más bajo de S_1 a través de relajación vibracional y conversión interna. Este proceso no radiativo tiene lugar en picosegundos (10^{-12} s). La emisión de fluorescencia se produce desde el nivel vibracional de más baja energía de S_1 al nivel fundamental S_0 . Por esta razón, el espectro de fluorescencia se desplaza a energías más bajas que su correspondiente espectro de absorción. La fluorescencia tiene lugar en la escala de tiempo de los nanosegundos (10^{-9} s).

A continuación, se detallan algunas de las **transiciones no radiativas** que compiten en diferente modo por la desactivación del nivel S_1 , aunque son posibles otras muchas vías de desactivación (Figura 1.2)²:

² Valeur, B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Wiley: 2001.

- la *conversión interna*, es un proceso fotofísico, transición no radiante, isoenergética, entre dos estados electrónicos de igual multiplicidad. Se produce cuando un nivel vibracional de un estado electrónico excitado superior está acoplado a un nivel vibracional de un estado electrónico excitado inferior (ej. regreso directo al estado fundamental sin emisión de fluorescencia, del $S_{2,4}$ al $S_{1,0}$).
- la *relajación vibracional*, que es la pérdida de energía de un nivel vibracional superior a un nivel vibracional inferior, dentro del mismo estado electrónico excitado (ej. del $S_{1,4}$ al $S_{1,0}$).
- el *cruce intersistema*, que es una transición entre dos estados electrónicos excitados de diferente multiplicidad de espín (ej. del $S^*_{1,0}$ al $T^*_{1,0}$ ó del $T^*_{1,0}$ al S_0). Sólo están permitidas las transiciones entre estados electrónicos con la misma multiplicidad de espín. Las transiciones entre estados con diferente multiplicidad de espín están formalmente prohibidas, pero pueden ocurrir debido a un proceso llamado acoplamiento espín-orbital.
- la *desactivación bimolecular* o “*quenching*”, proceso en el que el fluoróforo se desactiva al entrar en contacto con otra molécula (llamada quencher o inhibidor de la fluorescencia) y regresa al estado fundamental.

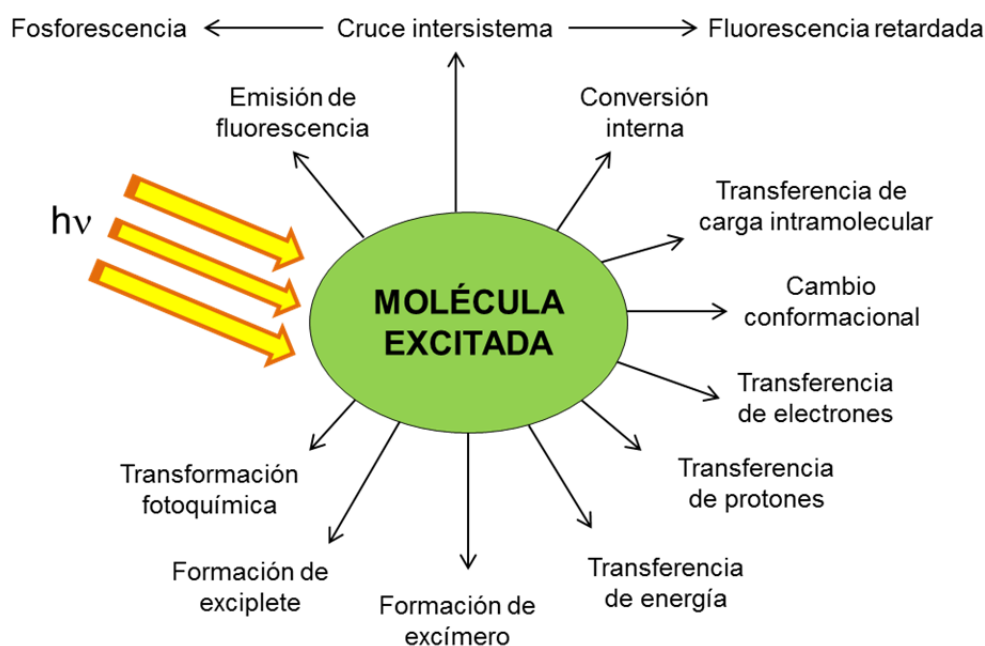


Figura 1.2. Posibles vías de desactivación de moléculas excitadas.

Se denomina fluoróforo a una molécula que es capaz de emitir luz por fluorescencia. La luz emitida es de menor energía, y por tanto, de mayor longitud de onda que la luz absorbida. Esta emisión de luz devuelve al fluoróforo al estado fundamental. En su estado fundamental, el fluoróforo se encuentra en un estado de baja energía, configuración estable.

El proceso de fluorescencia se puede resumir en 3 etapas:

1. La excitación de un fluoróforo por absorción de luz.
2. Un tiempo de vida transitorio en el que se disipa energía.
3. El regreso del fluoróforo al estado fundamental, acompañado por la emisión de luz.

La espectroscopia de fluorescencia se ha convertido en una herramienta muy útil para monitorizar cambios a nivel molecular en todo tipo de sistemas, y por supuesto, en sistemas poliméricos. Esto se debe a las ventajas que presenta la fluorescencia en comparación con otras técnicas convencionales:³

- ✓ Presenta una alta sensibilidad, lo que permite utilizar concentraciones de fluoróforo muy bajas.
- ✓ Es una técnica altamente selectiva, pudiendo distinguir un fluoróforo en particular en una mezcla de especies fluorescentes.
- ✓ Los tiempos de respuesta son cortos (del orden de 10^{-9} segundos), lo que permite un seguimiento en tiempo real del proceso que se quiera analizar.
- ✓ Es un método no destructivo de la muestra.
- ✓ La cantidad de muestra necesaria para llevar a cabo el estudio es muy pequeña.
- ✓ No es necesario un proceso de muestreo, pues el análisis se puede realizar *in situ*.

³ (a) Retting, W.; Strehmel, B.; Schrader, S.; Seifert, H., *Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine*. Berlin, 1999, (b) Sharma, A.; Schulman, S. G., *Introduction to Fluorescence Spectroscopy*. New York, 1999.

- ✓ Se pueden estudiar en tiempo real procesos que ocurren a diferentes escalas de tiempo.
- ✓ Existe la posibilidad de detección remota, utilizando fibras ópticas.

Una desventaja es que la fluorescencia intrínseca de los materiales poliméricos suele ser muy débil y, en el caso de que exista, no aparece en un rango específico de longitudes de onda. Y es por ello por lo que prácticamente siempre se requiere la incorporación de una sonda fluorescente al material que dé información sobre los procesos que ocurren.

El proceso de incorporación de las sondas a los sistemas poliméricos que se deseen estudiar puede ser:

- Por adición en el proceso de polimerización.
- Por aditivación durante el procesado.
- Por dispersión de la sonda en el sistema (por disolución con la ayuda de disolventes).
- Por adsorción de la sonda en el material ya procesado.
- Injertando la molécula químicamente mediante modificación del polímero a través de un grupo reactivo.

Los datos espectrales de fluorescencia se presentan generalmente como espectros de emisión. Un espectro de emisión de fluorescencia es una representación de la intensidad de fluorescencia frente a la longitud de onda (en nm) o el número de onda (en cm^{-1}). Los espectros de emisión pueden ser muy diferentes unos de otros y dependen de la estructura química del fluoróforo y del disolvente en el cual esté disuelto.

1.1.2. Sondas fluorescentes.

Se denomina **sonda fluorescente** a aquella molécula fluorescente insertada en un sistema para proporcionar información sobre el mismo. Cuando esta molécula está unida covalentemente a alguno de los componentes del sistema, se le denomina etiqueta fluorescente.

También se suele utilizar el término **marcador fluorescente** para los compuestos cuya presencia en un determinado medio o en un lugar concreto permite visualizarlo, y se utilizan por tanto como agentes de identificación, contraste o tinción.

La fluorescencia se produce normalmente a partir de moléculas aromáticas. Algunos fluoróforos típicos se muestran en la Figura 1.3.



Figura 1.3. Estructuras de sustancias químicas fluorescentes y luminiscencia de las mismas al ser irradiadas con luz UV. (Imagen tomada de “*Principles of Fluorescence Spectroscopy*”, ref. 1, pág 2).

Los **sensores fluorescentes** son aquellas moléculas que sufren cambios en su emisión de fluorescencia en respuesta a un estímulo específico. Los cambios se producen en propiedades como la polaridad, rigidez, pH, viscosidad, presión, temperatura, potencial eléctrico o movilidad molecular del medio. Como consecuencia de la fuerte influencia del medio circundante en la emisión de fluorescencia, las moléculas fluorescentes se utilizan como sondas para la investigación de sistemas físico-químicos, bioquímicos y biológicos.

Pero sólo algunos compuestos orgánicos fluorescentes son útiles como sensores. Existen diferentes familias de sondas fluorescentes cuyas propiedades de emisión varían frente a cambios en el entorno químico-físico en que se encuentran y que son capaces de enviar información sobre esos cambios.

Son muchos los autores que han estudiado y analizado las sondas fluorescentes y sus mecanismos, estableciendo para ello diferentes criterios de

clasificación.^{2,4} Dentro de las familias de sondas fluorescentes empleadas habitualmente en el campo de los materiales poliméricos se encuentran:

- Sondas de formación de excímero.⁵
- Sondas de formación de excíplete.⁶
- Sondas Dewar.⁷
- Sondas de fotoisomerización *cis-trans*.⁸
- Sondas de transferencia de carga intramolecular (TICT, Twisted Intramolecular Charge-Transfer).⁹
- Sondas de transferencia electrónica.
- Rotores moleculares.

⁴ Strehmel, B., Fluorescence Probes for Material Science. In *Advanced Functional Molecules and Polymers*, Nalwa, H. S., Ed. Overseas Publishers Association: 2001; Vol. 3, Electronic and Photonic Properties.

⁵ Birks, J. B.; Christophorou, L. G., Excimer fluorescence spectra of pyrene derivatives. *Spectrochimica Acta* **1963**, 19 (2), 401-410.

⁶ Zhang, S.-I.; Lang, M. J.; Goodman, S.; Durnell, C.; Fidler, V.; Fleming, G. R.; Yang, N.-c. C., Donor-Acceptor Interaction and Photochemistry of Polymethylene-Linked Bichromophores in Solution. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118 (38), 9042-9051.

⁷ Fritz, R.; Kungl, A.; Retting, W.; Springer, J., Photochemical fluorescence probes: rate distributions in solid polymers. *Chemical Physics Letters* **1996**, 260 (3-4), 409-417.

⁸ Hohlneicher, G.; Dick, B., Experimental determination of the low-lying excited states of trans-stilbene. *Journal of Photochemistry* **1984**, 27 (2), 215-231.

⁹ (a) Rettig, W., Charge Separation in Excited States of Decoupled Systems-TICT Compounds and Implications Regarding the Development of New Laser Dyes and the Primary Processes of Vision and Photosynthesis. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1986**, 25 (11), 971-988, (b) Paczkowski, J.; Neckers, D. C., Twisted Intramolecular Charge-Transfer Phenomenon as a Quantitative Probe of Polymerization Kinetics. *Macromolecules* **1991**, 24, 3013-3016, (c) Rettig, W.; Lapouyade, R., Fluorescence Probes Based on Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) States and Other Adiabatic Photoreactions. In *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Lakowicz, J., Ed. Springer US: 1994; Vol. 4, pp 109-149.

En este Trabajo, las sondas fluorescentes utilizadas pertenecen a las familias de transferencia electrónica y rotores moleculares, por lo que a continuación se describen con detalle.

➤ Sondas de transferencia electrónica.

Sondas como el cromóforo **acridina** son moléculas aromáticas π -deficientes con un centro de densidad electrónica elevada. Presentan espectros similares a sus homólogos hidrocarbonados, no existiendo diferencias significativas en sus niveles energéticos electrónicos. Sin embargo, la formación de su forma catiónica conduce a un cambio pronunciado en sus propiedades fotofísicas, generando la variación de dichos niveles electrónicos, como consecuencia de la protonación de su centro de densidad electrónica elevada.¹⁰

Los derivados de **9-aminoacridina** son sistemas heterocíclicos π -deficientes capaces de mostrar grandes diferencias de fluorescencia en presencia de determinados analitos. El cromóforo presenta normalmente una emisión de fluorescencia débil como consecuencia de la deslocalización electrónica que posee y que desactiva dicha emisión. Pero esta desactivación no se produce si en el medio donde se encuentra el cromóforo existen especies cargadas positivamente del tipo A^{n+} , como protones o cationes metálicos, ya que la captura de estas especies evita dicha transferencia electrónica, tal y como se muestra en la Figura 1.4.

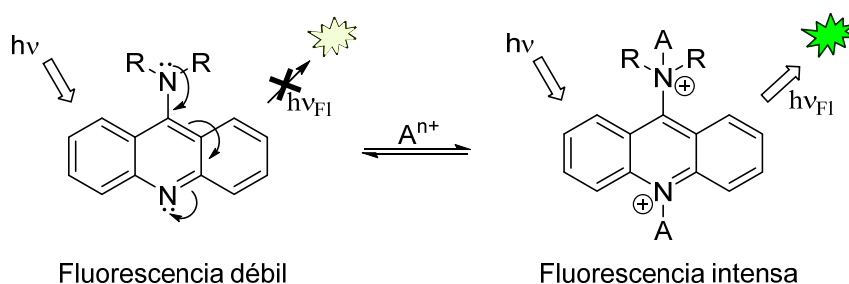


Figura 1.4. Bloqueo de transferencia electrónica intramolecular de 9-aminoacridinas.

¹⁰ (a) Albert, A., *The Acridines*. 2nd ed.; Edward Arnold Ltd.: London, 1966, (b) Acheson, R. M., *Heterocyclic Compounds. Acridines*. 2nd ed.; John Wiley: 1973; Vol. 9.

Ya que la captura de estas especies cargadas positivamente conduce a un incremento en la emisión de fluorescencia, estos compuestos se utilizan en la detección de cationes metálicos y en el estudio de la variación del pH.¹¹

Otro tipo de sensores fluorescentes son los de **Transferencia Electrónica Fotoinducida** o PET (photoinduced electron transfer), de gran interés debido a sus diversas aplicaciones.¹²

Las **naftalimidas** son sondas que aprovechan el proceso PET, que tiene lugar desde grupos amino a hidrocarburos aromáticos. Cuando se excita el fluoróforo, el par de electrones del nitrógeno del grupo amino ocupa un orbital de mayor energía (HOMO_N) que la vacante dejada por el electrón excitado (HOMO_F), dándose entonces la transferencia electrónica que desactiva la fluorescencia del fluoróforo muy eficientemente (Figura 1.5). Cuando el par de electrones del grupo amino se compromete en otro proceso, se impide la

¹¹ (a) Thiagarajan, V.; Selvaraju, C.; Malar, E. J. P.; Ramamurthy, P., A novel fluorophore with dual fluorescence: Local excited state and photoinduced electron-transfer-promoted charge-transfer state. *ChemPhysChem* **2004**, 5 (8), 1200-1209, (b) Park, M. S.; Swamy, K. M. K.; Lee, Y. J.; Lee, H. N.; Jang, Y. J.; Moon, Y. H.; Yoon, J., A new acridine derivative as a fluorescent chemosensor for zinc ions in an 100% aqueous solution: a comparison of binding property with anthracene derivative. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47 (46), 8129-8132, (c) Andrew, T. L.; Swager, T. M., A Fluorescence Turn-On Mechanism to Detect High Explosives RDX and PETN. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129 (23), 7254–7255, (d) Silva, A. P. d.; Moody, T. S.; Wright, G. D., Fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) sensors as potent analytical tools. *Analyst* **2009**, 134 (12), 2385-2393, (e) Ashokkumar, P.; Ramakrishnan, V. T.; Ramamurthy, P., Photoinduced electron transfer (PET) based Zn 2+ fluorescent probe: Transformation of turn-on sensors into ratiometric ones with dual emission in acetonitrile. *Journal of Physical Chemistry A* **2011**, 115 (50), 14292-14299, (f) Xu, K.-X.; Kong, H.-J.; Li, P.; Yang, L.; Zhanga, J.-L.; Wang, C.-J., Acridine-based enantioselective fluorescent sensors for the malate anion in water. *New Journal of Chemistry* **2014**, 38 (3), 1004-1010.

¹² Silva, A. P. d.; Gunaratne, H. Q. N.; Lynch, P. L. M.; Patty, A. J.; Spence, G. L., Luminescence and charge transfer. Part 3. The use of chromophores with ICT (internal charge transfer) excited states in the construction of fluorescent PET (photoinduced electron transfer) pH sensors and related absorption pH sensors with aminoalkyl side chains. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1993**, (9), 1611-1616.

transferencia electrónica y por tanto la desactivación, observándose un aumento en la intensidad de emisión de fluorescencia.

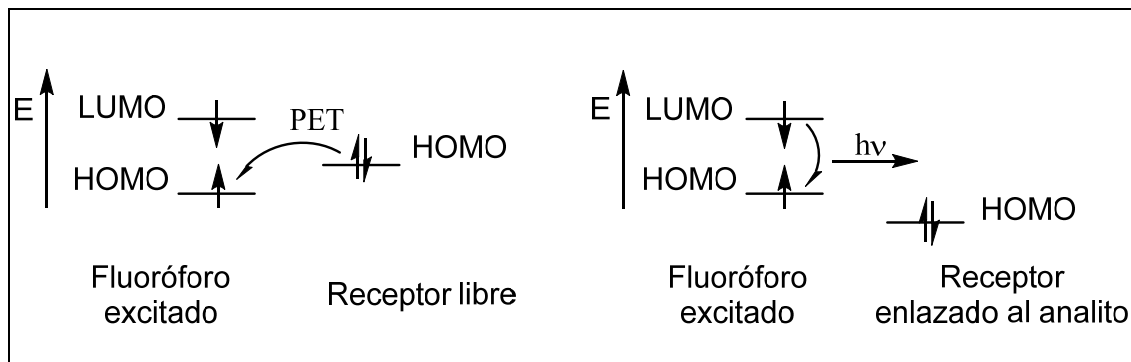


Figura 1.5. Fundamento mecanístico de los sensores PET en presencia de protones o cationes metálicos.

Este mecanismo es el mismo para indicadores de pH y para detección de cationes metálicos, aunque pueden darse diferentes mecanismos PET en el caso de los metales de transición.¹³

Estructuralmente, estas moléculas tienen un diseño de tipo “fluoróforo-espaciador-receptor”, como se muestra en la Figura 1.6.¹⁴

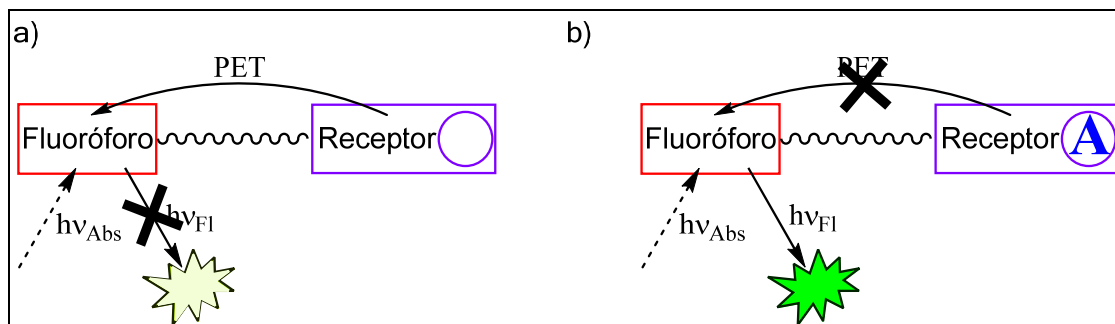


Figura 1.6. . Diseño de un sensor molecular PET compuesto por la subunidad fluorescente, el espaciador y la subunidad receptora. (a) Transferencia electrónica desde el receptor libre al fluoróforo excitado, resultando en el estado “off” del sensor. (b) Transferencia electrónica bloqueada por el receptor enlazado al analito, resultando en el estado “on” del sensor.

¹³ Ramachandram, B.; Saroja, G.; Sankaran, N. B.; Samanta, A., Unusually High Fluorescence Enhancement of Some 1,8-Naphthalimide Derivatives Induced by Transition Metal Salts. *Journal of Physical Chemistry B* **2000**, 104, 11824-11832.

¹⁴ Silva, A. P. d.; Moody, T. S.; Wright, G. D., Fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) sensors as potent analytical tools. *Analyst* **2009**, 134, 2385-2393.

En general, la subunidad fluorescente es un sistema aromático con sustituyente electrodonador, y el receptor es un heteroátomo con al menos un par de electrones disponibles, generalmente un átomo de nitrógeno. Los componentes se seleccionan de manera que, en ausencia de estímulo, la fluorescencia está desactivada por transferencia electrónica del par de electrones del N distal (Figura 1.6.a), de manera que la PET desde el receptor al fluoróforo bloquee la fluorescencia del sistema. Sin embargo, en presencia de un analito capaz de unirse al receptor, su par de electrones se compromete y el proceso PET entre el receptor y el fluoróforo no se produce, resultando un sistema fluorescente (Figura 1.6.b).

La mayoría de los sensores moleculares PET consisten en un fluoróforo unido a un resto amina a través de un espaciador etileno.

Las **1,8-naftalimidias** y sus derivados sustituidos en la posición C4 (Figura 1.7) han sido de especial interés por su intensa fluorescencia, su buena fotoestabilidad y sus aplicaciones en diversas áreas, como sensores medioambientales,¹⁵ sustancias biológicas fotosensibles,¹⁶ marcadores fluorescentes en biología y medicina,¹⁷ captadores de energía solar,¹⁸ o como sensores químicos eficaces en la detección de iones metálicos y protones.¹⁹

¹⁵ Duke, R. M.; Veale, E. B.; Pfeffer, F. M.; Kruger, P. E.; Gunnlaugsson, T., Colorimetric and fluorescent anion sensors: an overview of recent developments in the use of 1,8-naphthalimide-based chemosensors. *Chemical Society Reviews* **2010**, 39, 3936-3953.

¹⁶ Tao, Z. F.; Qian, X., Naphthalimide hydroperoxides as photonucleases: substituent effects and structural basis. *Dyes and Pigments* **1999**, 43 (2), 139-145.

¹⁷ Andricopulo, A. D.; Yunes, R. A.; Filho, V. C.; Correa, R.; Filho, A. W.; Santos, A. R. S.; Nunes, R. J., Synthesis and analgesic properties of cyclic imides: naphthalimide and bis-naphthalimide derivatives. *Acta Farmacéutica Bonaerense* **1998**, 17 (3), 219-224.

¹⁸ Xuhong, Q.; Zhenghua, Z.; Kongchang, C., The synthesis, application and prediction of stokes shift in fluorescent dyes derived from 1,8-naphthalic anhydride. *Dyes and Pigments* **1989**, 11 (1), 13-20.

¹⁹ (a) Daffy, L. M.; Silva, A. P. d.; Gunaratne, H. Q. N.; Huber, C.; Lynch, P. L. M.; Werner, T.; Wolfbeis, O. S., Arenedicarboximide building blocks for fluorescent photoinduced electron transfer pH sensors applicable with different media and communication wavelengths. *Chemistry - A European Journal* **1998**, 4 (9), 1810-1815, (b) Grabchev, I.; Bojinov, V.; Petkov, C., Infrared

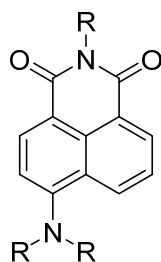


Figura 1.7. Estructura química de los derivados 1,8-naftalimidados sustituidos en la posición 4.

➤ Rotores moleculares.

Los rotores moleculares son un grupo de moléculas fluorescentes que presentan un mecanismo de transferencia de carga intramolecular o ICT (Intramolecular Charge Transfer) entre un grupo donador de electrones y otro aceptor, a través generalmente de un sistema aromático (estructuras tipo D- π -A). En la mayoría de los casos, la conformación torsionada es la preferida energéticamente en el estado excitado S_1 , mientras que en el estado fundamental S_0 la molécula se encuentra en una conformación plana. Por esta razón, la excitación electrónica induce un movimiento de rotación intramolecular en al menos un enlace sencillo de la molécula y la relajación devuelve a la molécula a su conformación plana (Figura 1.8).

Por otro lado, la diferencia de energía entre S_1 y S_0 es generalmente menor en la conformación torsionada, por lo que la relajación desde este estado causa una banda de emisión desplazada al rojo o, si la diferencia de energía es lo suficientemente pequeña, una relajación no radiativa.

absorption studies of some new 1,8-naphthalimides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2003**, 39 (2), 179-183, (c) Adhikari; Majumdar, Polymers in sensor applications. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29 (7), 699-766, (d) Sali, S.; Guittonneau, S.; Grabchev, I., A novel blue fluorescent chemosensor for metal cations and protons, based on 1,8-naphthalimide and its copolymer with styrene. *Polymers for advanced technologies* **2006**, 17, 180-185, (e) Staneva, D.; Grabchev, I.; Soumillion, J.-P.; Bojinov, V., A new fluorosensor based on bis-1,8-naphthalimide for metal cations and protons. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2007**, 189 (2-3), 192-197, (f) Chovelon, J. M.; Grabchev, I., A novel fluorescent sensor for metal cations and protons based of bis-1,8-naphthalimide. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy* **2007**, 67 (1), 87-91.

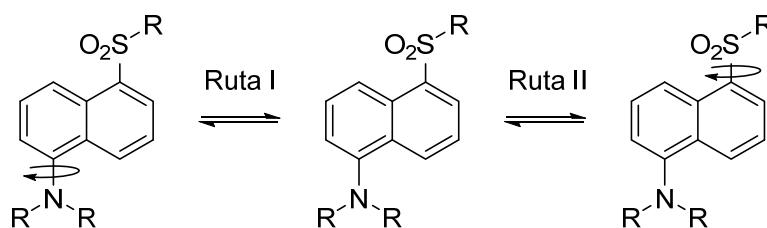


Figura 1.8. Esquema del proceso de rotación molecular interna del grupo donador (NR_2 , ruta I) y del grupo aceptor (sulfonamida, ruta II) particularizado para derivados de dansilo.

Las propiedades de emisión dependen mucho de la polaridad del disolvente, ya que este puede estabilizar el estado torsionado de algunos rotores moleculares. Estas moléculas se caracterizan por presentar momentos dipolares pequeños en el estado fundamental y bastante elevados en el estado excitado. Esto es debido a una considerable separación de cargas, más favorecida cuanto mayor es la conjugación existente entre los grupos donador-aceptor. Este efecto provoca que el máximo de emisión se desplace a mayores longitudes de onda con la polaridad del medio (solvatocromismo) debido a la estabilización que experimenta el estado excitado por solvatación del disolvente/medio. Este efecto no sólo se observa con la variación de polaridad del medio, sino también cuando existe una variación de viscosidad. La sensibilidad de estas sondas a la movilidad local está basada en las dos posibles vías de desactivación de la molécula. La ruta de desactivación preferente del estado excitado singlete se produce mediante un mecanismo de conversión interna no radiativo que sucede a través de la libre rotación en torno a un enlace. Si esta rotación está impedida o restringida parcialmente por la viscosidad (o rigidez) del medio, la emisión de fluorescencia será mayor. Dado que la reorientación del sistema no puede completarse en la vida media del estado excitado, la emisión se efectúa desde estados parcialmente relajados, es decir, a longitudes de onda más cortas, lo que provoca además el desplazamiento de los máximos de emisión en función de la “rigidez” del medio. Asimismo, la intensidad de fluorescencia, el rendimiento cuántico y el tiempo de vida en el estado excitado aumentarán al hacerlo la viscosidad del microentorno en el que se encuentra la sonda.

1.1.3. Aplicación en Ciencia de Materiales.

La espectroscopia de fluorescencia se puede aplicar en una gran gama de problemas en las ciencias química y biológica. Las medidas pueden proporcionar información sobre innumerables procesos moleculares (interacciones de moléculas de disolvente con fluoróforos, cambios en la concentración, difusión rotacional de biomoléculas, localización subcelular, distancias intra/intermoleculares, cambios conformacionales, interacciones de enlace químico, caracterización estructural, actividad enzimática...).

Las sondas fluorescentes proporcionan gran cantidad de información en diversos campos:²

- Polímeros: dinámica de cadenas poliméricas, microviscosidad, volumen libre, orientación de las cadenas en muestras estiradas, miscibilidad, separación de fases, difusión de especies a través de redes poliméricas, dinámicas de macrociclación de extremo a extremo, seguimiento de polimerizaciones, degradación.
- Superficies sólidas: naturaleza de la superficie de sílice coloidal, arcillas, zeolitas, geles de sílice, cristales porosos Vycor, alúmina, rigidez, polaridad y modificación de superficies.
- Disoluciones de tensioactivos: concentración micelar crítica, distribución de reactivos entre partículas, números de agregación del surfactante, propiedades interfaciales y polaridad, dinámicas de disoluciones de tensioactivos, coeficientes de partición, transiciones de fase, influencia de aditivos.
- Membranas biológicas: fluidez, parámetros de orden, interacciones lípido-proteína, difusión traslacional, accesibilidad local, cambios estructurales, potenciales de membrana, efecto de aditivos, localización de proteínas, organización lateral y dinámicas.
- Vesículas: caracterización de las bicapas (microviscosidad, parámetros de orden), transición de fases, efecto de aditivos, pH interno, permeabilidad.
- Proteínas: sitios de unión, desnaturalización, accesibilidad local, dinámicas, distancias, transición conformacional.

- Ácidos nucleicos: flexibilidad, dinámicas de torsión, estructura de hélice, deformación debida a agentes intercalantes, fotoescisión, accesibilidad, carcinogénesis.
- Células: visualización de las membranas, lípidos proteínas, ADN, ARN, antígenos en superficie, glicoconjugados de superficie; dinámica de membrana; permeabilidad de membrana; potencial de membrana; pH intracelular; concentración citoplásmica de calcio, sodio, cloruro, protones; estado redox; actividades enzimáticas; interacciones célula-célula y célula-virus; fusión de membrana; endocitosis; viabilidad, ciclo celular; actividad citotóxica.
- Inmunoquímica: ensayos inmunofluorométricos.

En la Ciencia de Polímeros, campo de interés del presente Trabajo, la espectroscopia de fluorescencia es una herramienta de gran utilidad, dado que puede suministrar información que no se puede obtener por otros métodos. Así, mediante la incorporación de fluoróforos en los medios poliméricos, esta técnica se utiliza para el estudio de diversos procesos en polímeros,²⁰ para el estudio de los mecanismos de oxidación, degradación y estabilización de polímeros.²¹ También ha sido posible el estudio de la morfología,²² separación de fases,²³ absorción de agua,²⁴ fenómenos de relajación,²⁵ transiciones²⁶....

²⁰ Retting, W.; Strehmel, B.; Schrader, S.; Seifert, H., *Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine*. Berlin, 1999.

²¹ Allen, N. S., *Analysis of Polymer Systems*. Elsevier, Applied Science Publishers Limited: London, 1982; p 79.

²² (a) Jenneskens, L. W.; Verhey, H. J.; Ramesdonk, H. J. V.; Witteveen, A. J.; Verhoeven, J. W., Intramolecular charge-transfer fluorescence of 1-phenyl-4-[(4-cyano-1-naphthyl)methylene] piperidine as a morphology probe in α,ι -diacetyl poly(ethylene glycol) matrixes. *Macromolecules* **1991**, 24 (14), 4038-4040, (b) Melucci, M.; Barbarella, G.; Zambianchi, M.; Benzi, M.; Biscarini, F.; Cavallini, M.; Bongini, A.; Fabbioni, S.; Mazzeo, M.; Anni, M.; Gigli, G., Poly(α -vinyl- ω -alkyloligothiophene) Side-Chain Polymers. Synthesis, Fluorescence, and Morphology. *Macromolecules* **2004**, 37 (15), 5692-5702.

²³ (a) Tsai, F. J.; Torkelson, J. M., Phase separation of oligomeric polystyrene-polybutadiene blends as studied by excimer fluorescence. *Macromolecules* **1988**, 21 (4), 1026-1033, (b) Doroshenko, M.; Gonzales, M.; Best, A.; Butt, H.-J.; Koynov, K.; Floudas, G.,

Las aplicaciones de sondas fluorescentes en Ciencia de los Materiales requieren elegir sondas:

- a) Con alto coeficiente de absorción.
- b) Con alto rendimiento cuántico de emisión de fluorescencia.
- c) Fotoestables y termoestables.
- d) Compatibles con las propiedades de absorción y emisión de la matriz.
- e) Que eviten su exudación y no se extraigan del sistema en el orden de tiempos de los procesos a estudiar.
- f) Inertes químicamente.

La mayor parte de los materiales orgánicos absorben en la región ultravioleta, donde muchas sondas presentan su absorción. Esto, por un lado, puede conducir a una mezcla de la fluorescencia de la sonda y el material si éste es intrínsecamente fluorescente, dificultando su estudio. Por otro lado, el solapamiento de las bandas de absorción de sonda y material puede conducir a la imposibilidad de excitación de ésta. Por lo tanto, es necesario elegir una sonda cuya absorción esté fuera del rango de la del material investigado. Esto se conoce como “regla de la ventana de absorción” y se explica gráficamente en la Figura 1.9.

Monitoring the Dynamics of Phase Separation in a Polymer Blend by Confocal Imaging and Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Macromolecular rapid communications* **2012**, 33 (18), 1568-1573.

²⁴ Olmos, D.; López-Morón, R.; González-Benito, J., The nature of the glass fibre surface and its effect in the water absorption of glass fibre/epoxy composites. The use of fluorescence to obtain information at the interface. *Composites Science and Technology* **2006**, 66 (15), 2758-2768.

²⁵ Paolo, R. E. D.; Melo, J. S. d.; Pina, J.; Burrows, H. D.; Morgado, J.; Maçanita, A. L., Conformational Relaxation of p-Phenylenevinylene Trimers in Solution Studied by Picosecond Time-Resolved Fluorescence. *ChemPhysChem* **2007**, 8 (18), 2657-2664.

²⁶ Roy, S. G.; Bauri, K.; Pala, S.; De, P., Tryptophan containing covalently cross-linked polymeric gels with fluorescence and pH-induced reversible sol–gel transition properties. *Polymer Chemistry* **2014**, 5 (11), 3624-3633.

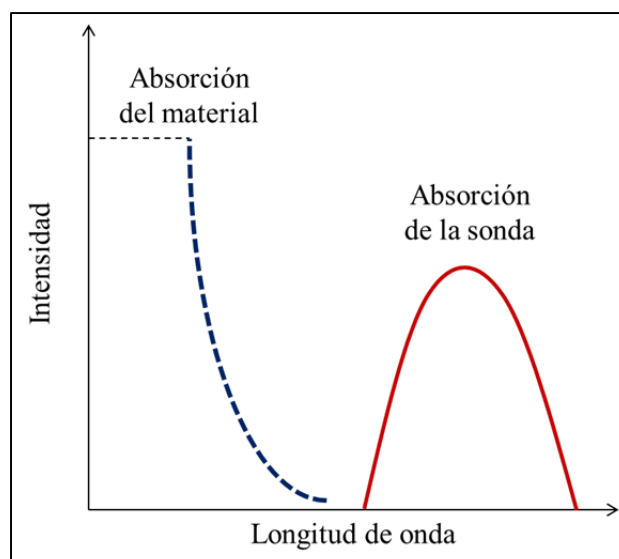


Figura 1.9. Perfil espectral ideal para un sistema material-sonda fluorescente.

Además, los polímeros sintéticos pueden contener trazas de catalizador o de otras impurezas. Estas trazas causan una fluorescencia intrínseca adicional, que normalmente no está relacionada con los procesos que puede sufrir la matriz.

La inercia química frente a especies reactivas como radicales, nucleófilos o electrófilos es otro punto crucial a tener en cuenta para obtener el mejor rendimiento de la sonda. La estabilidad del sistema cromofórico es imprescindible para lograr que los parámetros de la sonda sean óptimos, según los requisitos de la Figura 1.9.²⁷

Como se ha comentado anteriormente, la mayor parte de los procesos de importancia práctica pueden estar relacionados con cambios en la viscosidad y/o la polaridad en el microentorno de la sonda. Así, los procesos de interés que se pueden medir mediante la respuesta de fluorescencia de sondas sensibles a estos estímulos incorporadas en sistemas poliméricos son:²⁸

²⁷ Strehmel, B., Fluorescence Probes for Material Science. In *Advanced Functional Molecules and Polymers*, Nalwa, H. S., Ed. Overseas Publishers Association: 2001; Vol. 3, Electronic and Photonic Properties.

²⁸ Bosch, P.; Catalina, F.; Corrales, T.; Peinado, C., Fluorescent Probes for Sensing Processes in Polymers. *Chemistry - A European Journal* **2005**, 11, 4314-4325.

- Polimerización.
- Microentorno.
- Movilidad de las cadenas y transiciones térmicas.
- Degradación.
- Detección de humedad, iones o moléculas pequeñas.

1.2. POLÍMEROS DENDRÍTICOS.²⁹

Desde la primera definición de “macromolécula” como sistema de cadena en el año 1920 por Staudinger,³⁰ hasta nuestros días, se han sintetizado diversas arquitecturas macromoleculares que se resumen en la Figura 1.10.

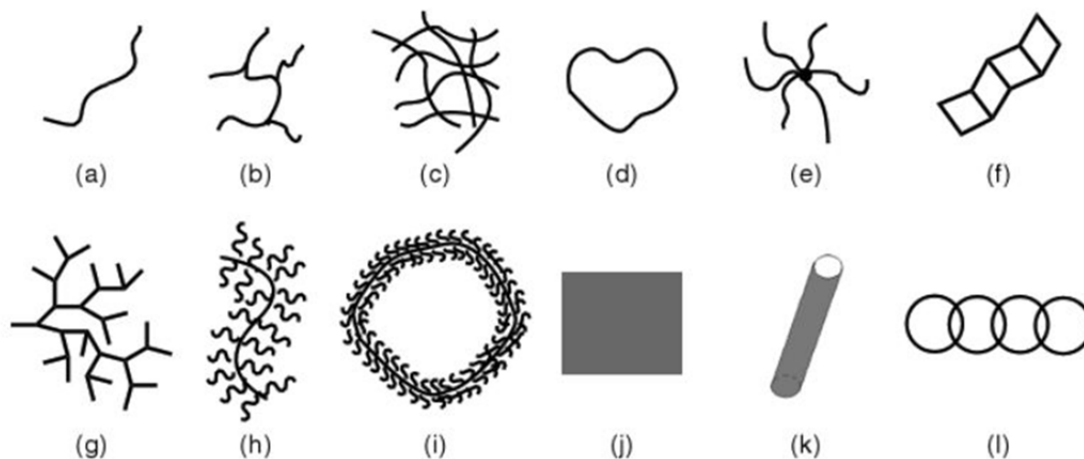


Figura 1.10. Arquitecturas macromoleculares: (a) lineal, (b) cadena ramificada, (c) entrecruzada, (d) cíclica, (e) estrella, (f) escalera, (g) dendrítica, (h) lineal tipo cepillo, (i) cíclica tipo cepillo, (j) laminar, (k) tubular, (l) entrelazada. (Imagen tomada de “*Hyperbranched Polymers*”, ref. 29b, pág 2).

Excepto la lineal (a), la cíclica (d), la escalera (f) y los polímeros entrelazados (l), todas las demás arquitecturas poseen estructuras ramificadas, indicando la importancia de la ramificación en la construcción molecular.

²⁹ (a) Frechet, M. J.; Tomalia, D. A., *Dendrimers and Other Dendritic Polymers*. John Wiley & Sons: New York, 2001, (b) Yan, D.; Frey, H.; Gao, C., *Hyperbranched Polymers : Synthesis, Properties, and Applications*. Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2011.

³⁰ Staudinger, H., Über Polymerisation (On Polymerization). *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1920**, 53 (6), 1073-1085.

En la década de 1980 se describieron por primera vez un tipo de macromoléculas tridimensionales altamente ramificadas,³¹ los **polímeros dendríticos**, que se convirtieron gradualmente en una de las áreas más interesantes en la Ciencia y Tecnología de Polímeros. A pesar de las 12 arquitecturas mostradas en la Figura 1.10, la dendrítica está reconocida como la cuarta clase de arquitectura polimérica, después de la lineal, la entrecruzada y la de cadena ramificada.

Hasta ahora, se han desarrollado 8 subclases de polímeros dendríticos, representados en la Figura 1.11.

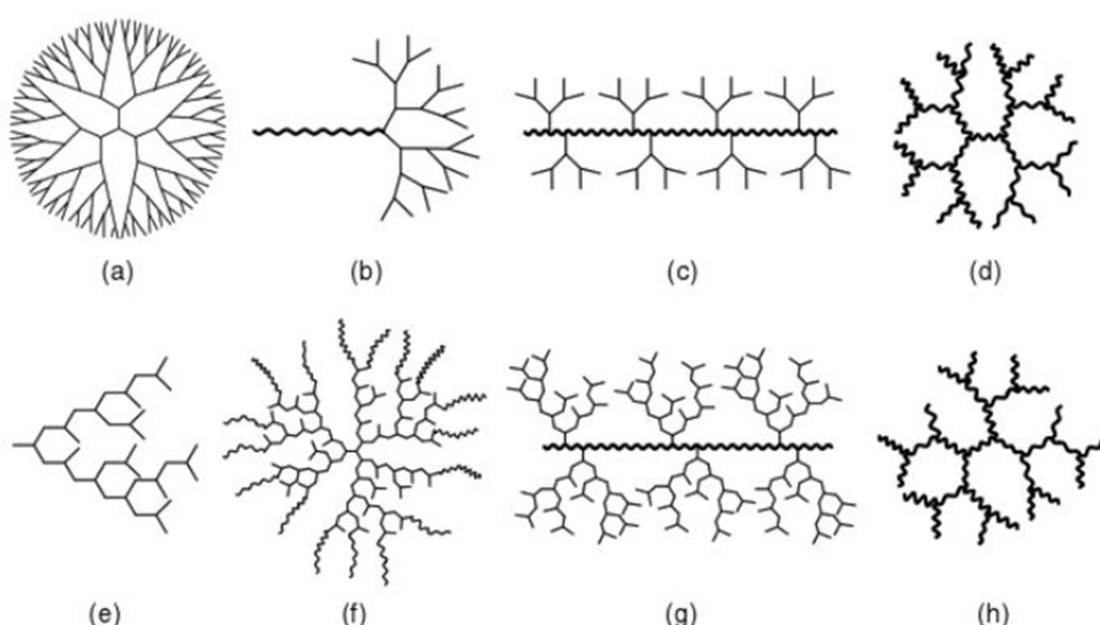


Figura 1.11. Polímeros dendríticos con diferentes estructuras: (a) dendrímero, (b) híbrido lineal-dendrímero, (c) polímero dendronizado, (d) DendriMacro, (e) polímero hiperramificado, (f) polímero estrella multibrazo o cepillo de polímero hiperramificado, (g) polímero hiperramificado-polímero de injerto, (h) HyperMacro. (Imagen tomada de “Hyperbranched Polymers”, ref. 29b, pág 3).

Existen dos métodos para la síntesis de dendrímeros, el *método divergente*, que consiste en construir el dendrímero a partir del núcleo, y el *método*

³¹ (a) Wehner, W.; Vögtle, F., Cascade and Nonskid-chain-like Synthesis of Molecular Cavity Topologies. *Synthesis* **1978**, 2, 155-158, (b) Tomalia, D. A.; Baker, H.; Dewald, J.; Hall, M.; Kallos, G.; Martin, S.; Roeck, J.; Ryder, J.; Smith, P., A New Class of Polymers: Starburst-Dendritic Macromolecules. *Polymer Journal* **1985**, 17 (1), 117-132.

convergente, basado en la síntesis del dendrón o rama, y el anclaje final con el núcleo.


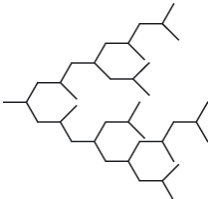
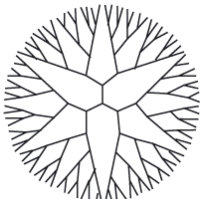
Los investigadores Kim y Webster acuñaron el término **polímero hiperramificado** (*HyperBranched Polymer*, HBP) para definir las macromoléculas dendríticas que tenían una topología de rama aleatoria, preparadas por policondensación en un solo paso a partir de monómeros tipo AB₂.³² A partir de sus trabajos pioneros, tanto ingenieros como científicos han prestado mucha atención a estos HBPs, que se han convertido en un campo destacado en Ciencia y Tecnología de Polímeros debido a sus propiedades únicas, alta reactividad, alto número de grupos terminales y amplio espectro de aplicaciones, así como a su facilidad de síntesis a gran escala y a sus prometedoras aplicaciones en diversos campos, desde la medicina a la nanotecnología.

En la Tabla 1.1 se resume una comparativa entre las características y propiedades de polímeros lineales, dendrímeros y HBPs.³³

³² (a) Kim, Y. H. 1987, (b) Kim, Y. H.; Webster, O. W., Hyperbranched polyphenylenes. *American Chemical Society, Polymer Preprints, Division of Polymer Chemistry* **1988**, 29 (2), 310-311, (c) Kim, Y. H.; Webster, O. W., Water-soluble hyperbranched polyphenylene: "A unimolecular micelle"? *Journal of the American Chemical Society* **1990**, 112 (11), 4592-4593, (d) Kim, Y. H.; Webster, O. W., Hyperbranched polyphenylenes. *Macromolecules* **1992**, 25 (21), 5561-5572, (e) Kim, Y. H., Hyperbranched polymers 10 years after. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **1998**, 36 (11), 1685-1698.

³³ Gao, C., Chapter 2: Hyperbranched polymers and functional nanoscience. In *Novel Polymers and Nanoscience*, M., A., Ed. India, 2009.

Tabla 1.1. Comparación de polímeros hiperramificados con polímeros lineales y dendrímeros.

Polímero	Lineal	Hiperramificado	Dendrímero
Estructura			
Topología	1D, lineal	3D, elipsoidal	3D, globular
Síntesis	1 paso, fácil	1 paso, rentable	Múltiples pasos,
Purificación	Precipitación	Precipitación	Cromatografía
Escalado	Fácil	Fácil	Difícil
Polidispersidad	>1.1	>3.0	1.0 (<1.05)
Grado de ramificación	0	0.4 - 0.6	1.0
Cavidad molecular	No	Si	Si
Enmarañamiento	Fuerte	Débil	Muy débil o nulo
Viscosidad	Alta	Baja	Muy baja
Solubilidad	Baja	Alta	Muy alta
Grupos funcionales	En los extremos	En unidades lineales y terminales	En unidades terminales
Reactividad	Baja	Alta	Muy alta

A pesar de las diferencias, los dendrímeros y los HBPs tienen algunas propiedades muy similares, como su baja viscosidad, alta solubilidad, presencia de numerosos grupos reactivos y buena capacidad de encapsulación. La principal ventaja de los HBPs sobre los dendrímeros es su síntesis menos tediosa, por lo que en términos de coste y productividad a gran escala, los HBPs se prefieren en aplicaciones industriales.

Los HBPs más utilizados comercialmente se emplean en el campo de los recubrimientos. Son poliésteres alifáticos hiperramificados (Boltorn) y poliésteres amida hiperramificados (Hybrane). Para el curado UV, generalmente se funcionalizan con grupos acrilato o metacrilato. Estas resinas tienen menos viscosidad y mayores velocidades de curado que los polímeros lineales insaturados.²⁹

Debido a la estructura altamente ramificada de estos polímeros y a su alta funcionalidad, los HBPs se utilizan también en aplicaciones de alta tecnología (tecnología médica, nanotecnología, microelectrónica o en sensores) y se sitúan como materiales prometedores en filmes delgados y aplicaciones de detección, mejorando la sensibilidad y selectividad, aunque el uso directo de filmes de HBPs en dispositivos sensores está aún por explotar.³⁴

³⁴ Voit, B. I., Hyperbranched polymers: a chance and a challenge. *Comptes Rendus Chimie* **2003**, 6 (8-10), 821-832.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS.

El Trabajo que se va a realizar en la tesis doctoral consiste en el desarrollo de nuevos polímeros hiperramificados funcionalizados con diferentes fluoróforos que actúen como sensores fluorescentes de cambios ocurridos en su microentorno.

Se modificarán dos HBPs comerciales de diferente número de grupos funcionales, tipo de esqueleto polimérico y peso molecular, con tres fluoróforos diferentes y se estudiará su comportamiento frente a distintos estímulos en disolución.

Asimismo, tanto los cromóforos como los HBPs funcionalizados se incluirán en filmes poliméricos mediante dopaje y anclaje covalente, para la fabricación de sensores fluorescentes que puedan actuar en la detección de contaminantes.

Además, las sondas se utilizarán para modificar otro tipo de materiales, como nanogeles o partículas de sílice, obteniendo así diversos sistemas sensores con respuesta a estímulos.

Los objetivos específicos son:

1. Sintetizar y caracterizar sondas fluorescentes poliméricas de bajo peso molecular que presenten emisión de fluorescencia sensible a polaridad, viscosidad, especies ácidas y cationes metálicos.
2. Estudiar la fotofísica de las sondas en disolución.
3. Evaluar la sensibilidad de las sondas a la polaridad y a la presencia de especies ácidas y cationes metálicos en disolución.
4. Estudiar el comportamiento de las sondas frente a la variación de rigidez del medio, mediante el seguimiento *in situ* y en tiempo real de reacciones de polimerización radical fotoiniciadas.
5. Determinar la capacidad de las sondas como sensores al ser insertadas en sistemas de diferente naturaleza: filmes poliméricos, nanogeles poliméricos y nanopartículas de sílice.

CAPÍTULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. MATERIALES.

Reactivos: cloruro de dansilo (>99%), anhídrido 4-nitro-1,8-naftálico (95%) y 9-cloroacridina (97%), se obtuvieron de Aldrich y se usaron sin purificación adicional. Propargilamina (98%), cloruro de mesilo (>99.7%), bicarbonato de sodio (99.7%), hidroccloruro de 2-aminoetil metacrilato (90%), sulfato de magnesio anhidro (>99.5%), trietilamina (>99%), *N,N*-dimetiletilendiamina (95%), ácido clorhídrico (37%), hidróxido sódico (>98%), cloruro de sodio (>99%), azida sódica (>99%), L(+)-ascorbato sódico (>98%), sulfato de cobre (II) pentahidratado (>98%), ácido etilendiaminotetraacético (>98.5%), hidróxido amónico sol. (28.0-30.0% NH₃), sulfato de sodio anhidro (>99%), ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (>98.5%), 4-clorobutirato de metilo (>98%), epibromohidrina (98%), tetrakis(4-clorofenil) borato de potasio (>99%), ácido trifluoroacético (>99%), di(*n*-octil) ftalato (DOP, 99%), nanopartículas de sílice (*fumed*, 99.8%, 7 nm, área superficial 380 m²/g) y 2-mercaptoetanol (>99%) se obtuvieron de Aldrich, y ácido acético glacial (99.8%, Scharlau), se usaron sin purificación adicional. El fenol cristalizado purísimo (99%, Panreac), se destiló antes de su uso. Para la preparación de los tampones fosfato se utilizó cloruro de sodio (>99%), hidrogeno fosfato de sodio (>99%), dihidrogeno fosfato de sodio (>99%) y ácido ortofosfórico (85%), de Aldrich.

Disolventes: diclorometano (99.5%, Aldrich), piridina (anhidra, 99.8%, Aldrich), dietil éter (Carlo Erba), cloroformo (Scharlau), benceno (>99%, Aldrich), acetato de etilo (99.5%, Aldrich), etanol absoluto (99.9%, Scharlau) y *N,N*-dimetilformamida (99%, Aldrich), todos ellos de grado de síntesis. Para el secado de disolventes se utilizó tamiz molecular (4Å, en forma de perlas, Scharlau). El agua destilada y el agua MilliQ se obtuvieron del sistema de purificación *Millipore Milli-U10*.

La cromatografía de columna flash se realizó usando gel de sílice (60Å tamaño de poro, 230-400 tamaño de malla de partícula, Merck), arena de mar lavada

fina (Qemical) y lana de vidrio químicamente pura (Panreac). Las reacciones se controlaron mediante cromatografía de capa fina (TLC) sobre placas cubiertas de gel de sílice (Merck 60 F254). La detección se realizó con luz UV y/o mediante inserción y revelado de la placa en una cámara cerrada con yodo metálico.

Polímeros comerciales: Hybrane® P1000 ($M_{w_{teor}}=1186$ g/mol, $-OH_{teor}=7$) de Polymer Factory, y Boltorn® H20 ($M_{w_{teor}}=1706$ g/mol, $-OH_{teor}=16$), de Perstop, PMMA (120 kDa), de Aldrich, y PVC ($M_w = 112000$ g/mol), de ATOCHEM, se utilizaron tal y como se recibieron.

Disolventes para estudio fotofísico: acetonitrilo (ACN), metanol (MeOH), acetato de etilo (AcOEt), cloroformo ($CHCl_3$), tetrahidrofurano (THF), dietil éter, ciclohexano y tolueno, de Sigma-Aldrich, y etanol (EtOH), de Scharlau, todos ellos de grado espectroscópico, se utilizaron tal y como se recibieron.

Monómeros: 3,4-epoxiciclohexilmetil-3,4-epoxiciclohexanocarboxilato (EEC), dimetacrilato de 1,6-hexanodiol (HDDMA, 95%), 2-hidroxietil metacrilato (HEMA, >99%), dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA, 98%), dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA, 95%), acrilato de butilo (BuA, 99%), dimetacrilato de poli(etilenglicol) 550 (PEGDMA), metacrilato de isobornilo (IBMA, 98.5%), dimetacrilato de bisfenol A etoxilado (BisEMA, >98%), se obtuvieron de Aldrich, 1,6-hexametilendiglicidiléter (HEDGE, resina facilitada por generosamente por el Prof. Marco Sangermano), glicidol (96%, Aldrich) y dimetacrilato de uretano (UDMA), de Esstech. Todos los monómeros se utilizaron tal y como se recibieron.

Iniciadores: hexafluorofosfato de 4-metilfenil[4-(2-metilpropil)fenilo]-yodonio disuelto en carbonato de propileno al 75/25 p/p (Irgacure 250, BASF); sales de triarilsulfonio hexafluoroantimoniato mezcladas en carbonato de propileno al 75/25 p/p (Aldrich); 2,2'-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure 651) y óxido de bis(2,4,6-trimetilbenzoil)fenilfosfina (Irgacure 819), ambos de Ciba Specialty Chemicals, facilitados generosamente por el Prof. Kurt Dietliker; azobisisobutironitrilo (AIBN, 98%, Aldrich) purificado por recristalización en metanol (p.f. 104°C) antes de su uso.

3.2. MÉTODOS Y TÉCNICAS INSTRUMENTALES.

Los compuestos sintetizados y las muestras preparadas se caracterizaron mediante técnicas térmicas, estructurales, cromatográficas, físico-químicas, espectroscópicas y reológicas. En los siguientes apartados se detallarán las características de los equipos utilizados y de los métodos experimentales.

- PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y ESPECTROSCÓPICAS:

3.2.1. Análisis elemental.

La composición elemental de los productos sintetizados se ha determinado en un microanalizador elemental *LECO CHNS-932*. El error de esta técnica es 0.3%.

3.2.2. Espectroscopia de masas ESI y APCI.

Para la obtención de los espectros de masas se ha utilizado un cromatógrafo de líquidos *HPLC-MSD 1100* acoplado a un espectrómetro de masas con analizador tipo cuadrupolo. Las fuentes de ionización utilizadas fueron electrospray (ESI) o ionización química a presión atmosférica por efecto de corona (APCI), en modo positivo. Con este equipo se pueden determinar los pesos y fórmulas moleculares en un rango de masas de 50-3000 u. El voltaje de fragmentación variable es de 10-240 e.V.

Las muestras se prepararon con una concentración de 0.5-1.0 mg/mL, utilizando metanol o acetonitrilo como disolvente.

3.2.3. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR).

En el presente trabajo se utilizaron diferentes espectrofotómetros de infrarrojo, en función del estudio realizado.

1.- Los espectros de infrarrojo de los compuestos sintetizados y el seguimiento de las reacciones de funcionalización con grupos azida y química “click” se registraron en un espectrofotómetro *Perkin-Elmer Spectrum-One* del tipo FT-IR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). En estos casos se ha trabajado en modo Reflectancia Total Atenuada (ATR), con un accesorio *Universal ATR Sampling* de seleniuro de zinc y diamante. Las condiciones específicas para la obtención de cada espectro fueron las siguientes: el intervalo de número de onda fue de 600 a 4000 cm^{-1} , la resolución de 4 cm^{-1} y el número de barridos igual a 32.

2.- Las cinéticas de fotopolimerización de resinas epoxídicas (**Capítulo 7**) se monitorizaron en tiempo real utilizando un espectrofotómetro *Thermo-Nicolet 5700* con una resolución de 8 cm^{-1} .

La muestra se expuso al mismo tiempo a la luz UV (con una lámpara UV de mercurio *LC8 Lightningcure™ Hamamatsu* de presión media y una intensidad de luz sobre la superficie expuesta de 200 mW/cm^2 , medida con un radiómetro EIT), que induce la polimerización, y al haz de análisis infrarrojo, que analiza *in situ* el alcance de la reacción.

El grado de curado se calcula a través de la variación del área de la banda del grupo funcional involucrado en la polimerización (anillo epoxídico), aplicando la Ecuación 3.1:

$$\% \text{conversión} = (1 - A_t/A_0) * 100 \quad \text{Ecuación 3.1}$$

siendo A_t el área del pico del grupo funcional a un tiempo dado y A_0 el área inicial del mismo pico.

En el caso de los grupos epoxi, se midió la absorbancia de la banda centrada en 750 cm^{-1} .

Las formulaciones líquidas se extendieron sobre una oblea de silicio con un aplicador cilíndrico consiguiendo una película de 25 μm de espesor.

3.- Para la medida de la cinética de polimerización en los sistemas con nanogeles (**Capítulo 8**) se utilizó un espectrofotómetro *Thermo Scientific Nicolet 6700* con una resolución de 4 cm^{-1} , equipado con dos cables de fibra óptica (*Multimode Fiber Optics*) a través de un puerto de fibra NIR (*Smart Fiberport, Nicolet Instrument*). Estas fibras constan de un núcleo de sílice fundida de 1 mm de diámetro con una apertura de 0.22 mm, tienen un rango de longitud de onda óptica de 350 a 2400 nm y una eficiencia de transmisión mayor del 90%.

La muestra se expuso al mismo tiempo a la luz UV (con una lámpara *EXFO Articure 4000 UV-Vis*, utilizando un filtro de paso de banda de $\lambda=365\text{ nm}$ y una intensidad de luz de irradiación sobre la superficie expuesta medida en mW/cm^2 con un radiómetro EIT), que induce la polimerización, y al haz de análisis infrarrojo, que analiza *in situ* el progreso de la reacción.

La cinética de la reacción se siguió por la medida del área del primer armónico de la absorbancia de los grupos metacrílicos, cuya banda está centrada en 6165 cm^{-1} . La conversión de los grupos metacrílicos se calcula según la Ecuación 3.1.

En este caso, el IR se utilizó junto a otros equipos, cuyo acoplamiento se explica en los Apartados 3.2.12, 3.2.13 y 3.2.14.

3.2.4. Resonancia magnética nuclear (RMN).

El registro de los espectros (^1H -RMN, ^{13}C -RMN y HSQC) de los compuestos sintetizados se ha realizado en varios espectrómetros: *Varian Unity-500*, *Varian Inova-400*, *Varian Mercury-400* o *Bruker Avance-300*, según el caso. Los espectros se registraron a 25°C y referenciaron frente a la señal del disolvente deuterado empleado en cada caso (CDCl_3 , DMSO-d_6), en función de la solubilidad de cada compuesto.

Los desplazamientos químicos se asignaron utilizando la señal del disolvente como patrón interno. Todos los espectros se analizaron con el software MestReNova 8.1.

3.2.5. Cromatografía de permeación en gel (GPC).

Para la determinación de pesos moleculares de polímeros, se utilizó un cromatógrafo de permeación en gel, que consta de una bomba isocrática HPLC (*Waters, modelo 1515*), un detector de índice de (*Waters, modelo 2414*) y dos columnas *Varian PLgel 5 μ m MIXED-D* (300 x 7.5 mm).

Como fase móvil se usó tetrahidrofurano de calidad HPLC, previamente filtrado y ultrasonificado. Los volúmenes de inyección fueron de 250 μ L de muestras preparadas con una concentración de 5-10 mg/mL y microfiltradas previamente (filtro PTFE, tamaño de poro 0.2 μ m, 17mm pk100, Symta). La velocidad de flujo fue de 1 mL/min. La calibración del equipo se realizó utilizando patrones de poliestireno (PS) de pesos moleculares conocidos y baja polidispersidad.

Para la caracterización de los nanogeles se utilizó un GPC de triple detección, de Viscotek, equipado con un detector de índice de refracción diferencial (RI, *Viscotek VE 3580*) y con un detector dual de viscosidad y de dispersión de luz (*Viscotek 270*).

En este caso, se utilizó como eluyente una mezcla de THF/acetona (90:10 v/v, con una velocidad de flujo de 1 mL/min a 35 °C en una serie de cuatro columnas que abarcan un peso molecular entre 10^4 - 10^7 g/mol. La cantidad de muestra necesaria para un análisis completo es de 150 mg. La calibración del equipo se realizó utilizando un patrón de poli(metacrilato de metilo) de 65 kDa.

3.2.6. Espectroscopia de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis).

Los espectros de absorción se registraron en un espectrofotómetro *UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35* de doble haz. Se emplearon cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y como referencia se empleó una cubeta con el disolvente puro correspondiente. El intervalo espectral seleccionado para la medida fue 700-200 nm. En todos los casos la velocidad de barrido fue de 480 nm/min y la anchura de las rendijas de 1 nm.

La determinación de los coeficientes de extinción molar (ϵ) en disolución se realizó a partir de medidas de absorción UV y la ley empírica de Lambert-Beer (Ecuación 3.2),

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon \cdot C \cdot l \quad \text{Ecuación 3.2}$$

donde A es la absorbancia, I_0 es la intensidad del haz incidente, I es la intensidad del haz transmitido, C es la concentración de la muestra en disolución (mol/L) y l es el paso óptico de la cubeta (cm).

3.2.7. Espectroscopia de fluorescencia.

Las medidas de emisión de fluorescencia para el análisis, identificación y cuantificación de las distintas sondas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro de luminiscencia *Perkin-Elmer LS-50B*, provisto del correspondiente software para el tratamiento de datos. Las condiciones para la obtención de los espectros se modificaron mediante la incorporación de atenuadores o variando la anchura de las rendijas de excitación y emisión de las entradas a los correspondientes monocromadores con el fin de no obtener saturación de los espectros. En todos los casos, se eligió como longitud de onda de excitación la correspondiente al máximo de la banda de absorción de la sonda bajo estudio.

Para el estudio fotofísico, se emplearon disoluciones diluidas de las sondas en los distintos disolventes (del orden de 10^{-5} M, que proporciona una absorbancia

inferior a 0.05 en la longitud de onda de excitación) en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Para obtener los valores de rendimiento cuántico de fluorescencia (Φ_F) se utilizó el método comparativo de Williams *et al.*¹, que implica el uso de muestras estándar con Φ_F conocido. El procedimiento consiste en registrar los espectros de absorción UV y de emisión de fluorescencia para 6 disoluciones de diferente concentración, del estándar y de la muestra problema, así como el disolvente puro. La representación de la fluorescencia integrada frente a la absorbancia da dos rectas de cuya pendiente se obtiene el valor del gradiente, proporcional a los rendimientos cuánticos relativos de las diferentes muestras. El rendimiento cuántico se calcula a partir de la Ecuación 3.3:

$$\Phi_X = \Phi_{ST} \left(\frac{Grad_X}{Grad_{ST}} \right) \left(\frac{\eta_X^2}{\eta_{ST}^2} \right) \quad \text{Ecuación 3.3}$$

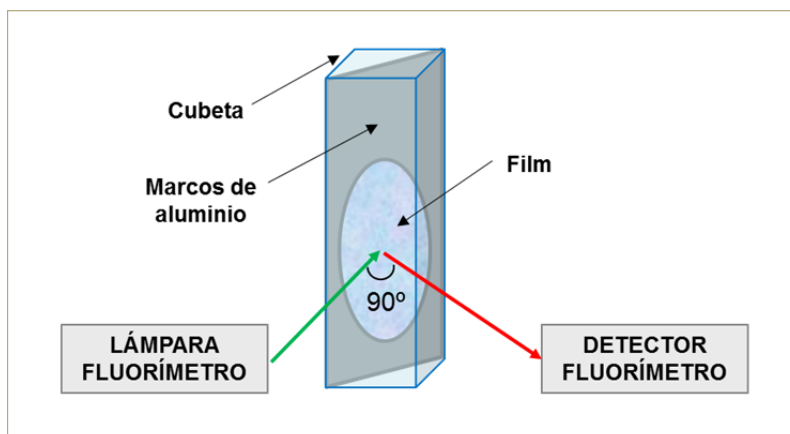
donde los subíndices *ST* y *X* se refieren al estándar y a la muestra problema, respectivamente, *Grad* es la pendiente de la intensidad de fluorescencia integrada frente a la absorbancia, y η es el índice de refracción del disolvente.

Como estándar se utilizó sulfato de quinina en disolución acuosa 0.1M H₂SO₄ ($\Phi_F = 0.577$). Para evitar efectos de reabsorción o de filtro interno, se emplean disoluciones con absorbancias siempre inferiores a 0.1 utilizando la cubeta de 1 cm de paso óptico.

Las medidas de emisión en filmes secos se realizaron en un accesorio para materiales en estado sólido (*ref. 52123130, Front Surface Accessory, de Perkin Elmer*).

Las medidas de filmes en inmersión se realizaron en una cubeta de cuarzo de boca abierta, colocando el filme en la diagonal de la cubeta y sujetándolo entre dos marcos de aluminio, que permiten la medida de la emisión de fluorescencia e impiden la posible deformación del filme por hinchamiento, tal y como se muestra en el siguiente esquema:

¹ Williams, A. T. R.; Winfield, S. A.; Miller, J. N., Relative fluorescence quantum yields using a computer controlled luminiscence spectrometer. *Analyst* **1983**, *108* (1290), 1067-1071.



En los experimentos de adición de ácido o metal, se introdujo un agitador magnético el fondo de la cubeta, que mantiene la disolución homogénea a lo largo del experimento.

En el estudio de sensibilidad de los filmes a vapores ácidos, el filme se introdujo en la diagonal de la cubeta de cuarzo sujeto con un tapón de caucho. Los filmes se cortaron con unas dimensiones de $1.3 \times 3.0 \text{ cm}^2$, de manera que ajustaran perfectamente en la diagonal de la cubeta y dejaran un espacio de 1 cm hasta el fondo, para evitar el contacto con el líquido generador de vapores. Se depositaron en el fondo 0.5 mL del ácido correspondiente y se selló la cubeta para contener los vapores en su interior.

3.2.8. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS).

Los análisis de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) o espectroscopia electrónica para análisis químico (ESCA) se realizaron con un espectrómetro *PHI 5000 VersaProbe* de *Physical Electronics*. Los experimentos se adquirieron con un haz de rayos X monocromático de Al K_α (energía de fotón: 1486.6 eV) y con un sistema de neutralización de doble haz constituido por un cañón de iones y un cañón de electrones, para reducir así la carga de la superficie de las muestras durante el análisis.

3.2.9. Microscopía electrónica de barrido (SEM).

La morfología de los materiales con partículas de sílice se estudió con un microscopio electrónico de barrido *FE-SEM Hitachi SU8000 UHR* de emisión de campo frío con ultra-alta resolución, operando con un voltaje de aceleración de 30 kV en el modo de imagen electrónica de transmisión (STEM). Los filmes fracturados se recubrieron por pulverización catódica con Pd/Au (20/80) a una presión de argón de 0.1 Torr durante 3 minutos a una corriente de 10 mA.

- PROPIEDADES TÉRMICAS:

3.2.10. Análisis termogravimétrico (TGA).

Los termogramas de los distintos materiales se realizaron en una termobalanza *TA-Q500 de TA Instruments*.

Los experimentos se llevaron a cabo en modo dinámico de alta resolución (Hi-Res Dynamic), en el intervalo de temperaturas de 25-800°C, bajo atmósfera inerte de nitrógeno con un flujo de 60 mL/min, a una velocidad de calentamiento constante de 10 °C/min. Los pesos de las muestras estudiadas variaron entre los 5 y 10 mg.

La temperatura máxima de descomposición ($T_{\text{máx}}$) se elige como el punto medio en la caída de la curva de pérdida de peso o el valor máximo de su primera derivada.

3.2.11. Acoplamiento calorímetro diferencial de barrido (DSC)-Fluorímetro.

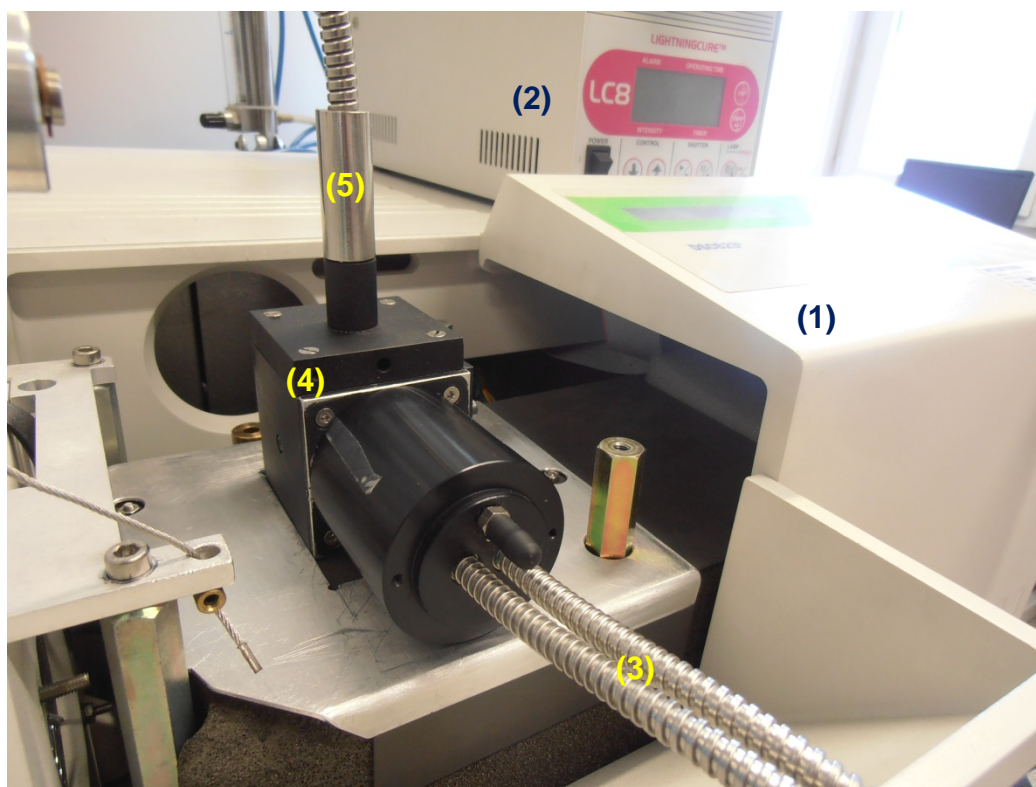
Los experimentos de calorimetría diferencial de barrido se realizaron con un calorímetro *Mettler-DSC-821e* (Fotografía pág 43, 1) acoplado con un sistema de enfriamiento *Intracooler TC100 Huber*, trabajando en modo isoterma. La

escala de temperaturas se calibró previamente a partir de la medida del punto de fusión de tres patrones: n-C₈H₈ ($T_m = -57.00\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_m = 181\text{ J/g}$), In ($T_m = 156.60\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_m = 28.45\text{ J/g}$) y Zn ($T_m = 419.50\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_m = 107.50\text{ J/g}$).

Esta configuración se ha utilizado para el seguimiento de las reacciones de fotopolimerización descritas en el **Capítulo 6**. El calorímetro se utilizó acoplado simultáneamente a una fuente de irradiación y al espectrofotómetro de fluorescencia.

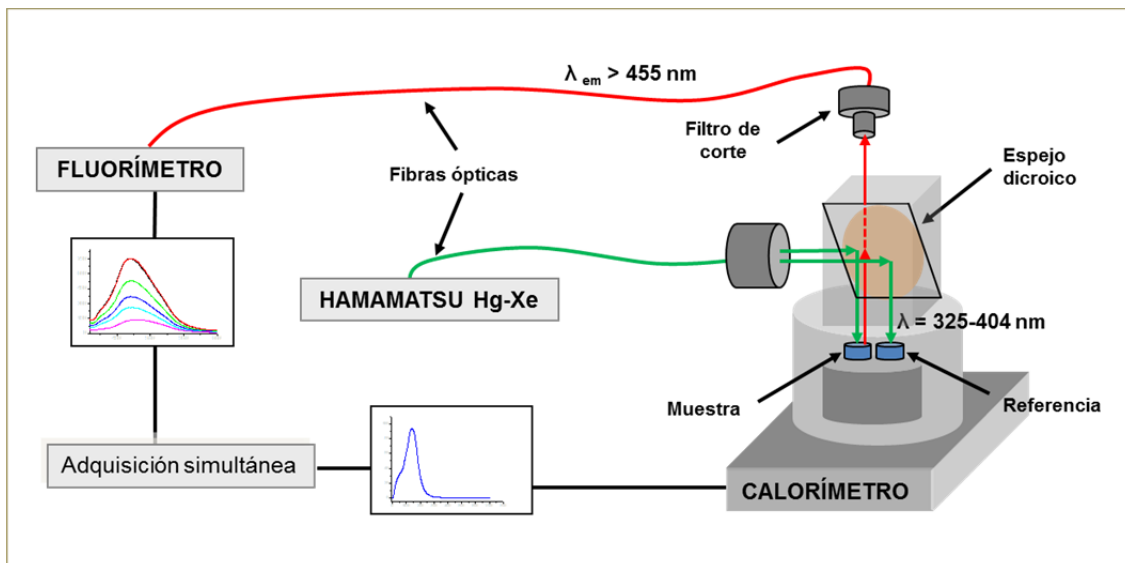
La fuente de irradiación **(2)**, *UV Hg-Xe LC8 Lightningcure™ Hamamatsu*, hace incidir la luz sobre muestra y referencia mediante dos fibras ópticas **(3)**, y permite la irradiación simultáneamente a la obtención de las curvas exotérmicas en el calorímetro.

Durante el proceso de fotopolimerización de la muestra es posible detectar la emisión de fluorescencia del cromóforo acoplando el espectrofotómetro de luminiscencia en el sistema de medida.



El accesorio **(4)** empleado en la conexión entre el fotoDSC y el fluorímetro (Esquema 3.1) consiste en una pieza cúbica que contiene un espejo dicróico

(ref. 86-323, *TECHSPEC de Edmund Optics*), situado a 45° con respecto a las cápsulas del calorímetro. El espejo produce una reflexión entre 325-404 nm superior al 98%, y una transmisión superior al 90% entre 415-850 nm de la radiación incidente. A la salida del accesorio se dispone un filtro de corte (ref. 51284, de Oriel; longitud de onda de corte: 455 nm) y una fibra óptica de cuarzo (6 mm de diámetro) que recoge la emisión de fluorescencia **(5)** y la dirige al detector del fluorímetro.



Esquema 3.1. Sistema experimental empleado en la conexión entre el fotoDSC y el fluorímetro.

Este accesorio permite que incida luz de $\lambda=325-404 \text{ nm}$ directamente sobre las cápsulas de referencia y muestra, mientras que el fluorímetro sólo registra la luz emitida por las sondas a partir de $\lambda=455 \text{ nm}$, sin que la luz incidente perturbe la medida. Todas las piezas del accesorio están anodizadas en negro para que la luz reflejada, directa y/o dispersa no interfiera en la emisión de fluorescencia de la muestra.

Con este sistema, la irradiación con luz UV inicia la reacción de polimerización y simultáneamente produce la excitación de la sonda fluorescente. Asimismo, los datos de emisión de fluorescencia de la sonda y la exoterma de polimerización de la reacción se recogen simultáneamente.

Las formulaciones se fotopolimerizaron a 30°C bajo un flujo de nitrógeno seco de 60 mL/min, y a una intensidad de luz incidente de 1.0 mW/cm² para el

estudio de las reacciones de copolimerización (**Capítulo 6.3.1**), y de 0.3 mW/cm² para el estudio de oligómeros de etilenglicol (**Capítulo 6.3.2**).

Las muestras se prepararon mezclando 1 mL del monómero, la sonda fluorescente correspondiente (2×10^{-6} M) y el fotoiniciador (1% en peso de *Irgacure 651®*), agitando durante 2-8 horas hasta completa disolución.

Para el estudio de copolimerización se utilizaron formulaciones de HDDMA y HEMA en proporciones 10:0, 7:3 y 5:5 (p/p).

La concentración de sonda fluorescente en el sistema es la mínima que permite medir adecuadamente los parámetros de emisión a lo largo de toda la fotopolimerización.

La concentración de fotoiniciador empleada asegura una absorción total de la intensidad de luz incidente durante toda la reacción en las condiciones experimentales utilizadas.

Se depositan 40 mg de la formulación en un crisol de aluminio en el portamuestras del calorímetro, se evacúa el oxígeno mediante corriente de nitrógeno durante 10 min y se comienza la reacción mediante la apertura del obturador de la lámpara.

La conversión instantánea (número de dobles enlaces polimerizados) se calcula dividiendo el flujo de calor desprendido en la fotorreacción por unidad de masa en cada momento, entre la entalpía teórica total para la reacción considerada,

$$\%Conversion = \frac{\Delta H \cdot M_w}{E_H \cdot n} \quad \text{Ecuación 3.4}$$

donde ΔH (en cal/g) es el área obtenida al integrar la curva exotérmica, M_w es el peso molecular del monómero (254.32 g/mol para HDDMA y 130.14 g/mol para HEMA), n es el número de dobles enlaces polimerizables (2 para HDDMA y 1 para HEMA) y E_H la energía de disociación del doble enlace (56 KJ/mol

para dobles enlaces metacrílicos).² Para el caso de la reacción de copolimerización la ecuación empleada es por tanto (Ecuación 3.5):

$$\%Conv = \frac{\Delta H(HDDMA) \times 254.32}{112} \%HDDMA + \frac{\Delta H(HEMA) \times 130.14}{56} \%HEMA$$

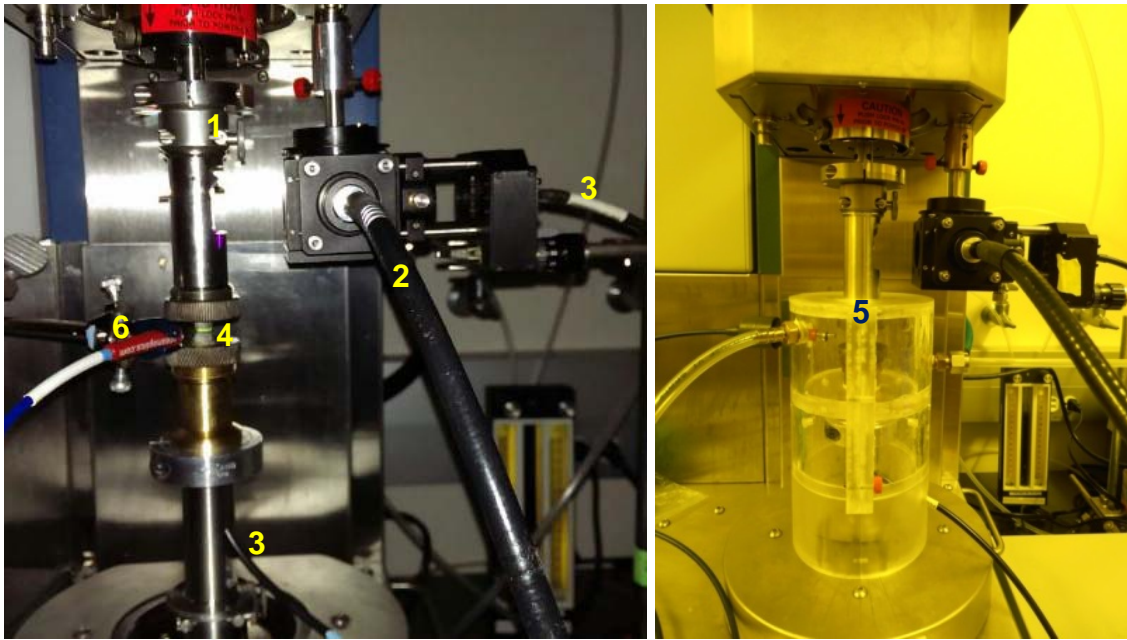
- PROPIEDADES MECÁNICAS:

Para la medida simultánea de las propiedades mecánicas de las muestras y su emisión de fluorescencia durante las reacciones de polimerización con nanogeles (**Capítulo 8**) se han utilizado tres equipos diferentes, diseñados y puestos a punto para este trabajo.

3.2.12. Acoplamiento Reómetro-IR-Fluorímetro.

En la medida de la variación del módulo de almacenamiento de la muestra durante la fotopolimerización se utilizó un reómetro ARES de *TA Instruments* (Fotografías pág 46, 1), con un accesorio de geometría plato-plato, que utiliza dos platos paralelos de cuarzo de 8 o de 20 mm de diámetro, según el caso (fotografías y Esquema 3.2). La distancia entre platos se fijó en 0.3 mm en todos los experimentos. Las medidas se realizaron por triplicado para cada formulación a 20 °C, una frecuencia de 5 rad/s y una deformación constante del 50%.

² Odian, G., *Principles of Polymerization*. 2nd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1981; p 264.

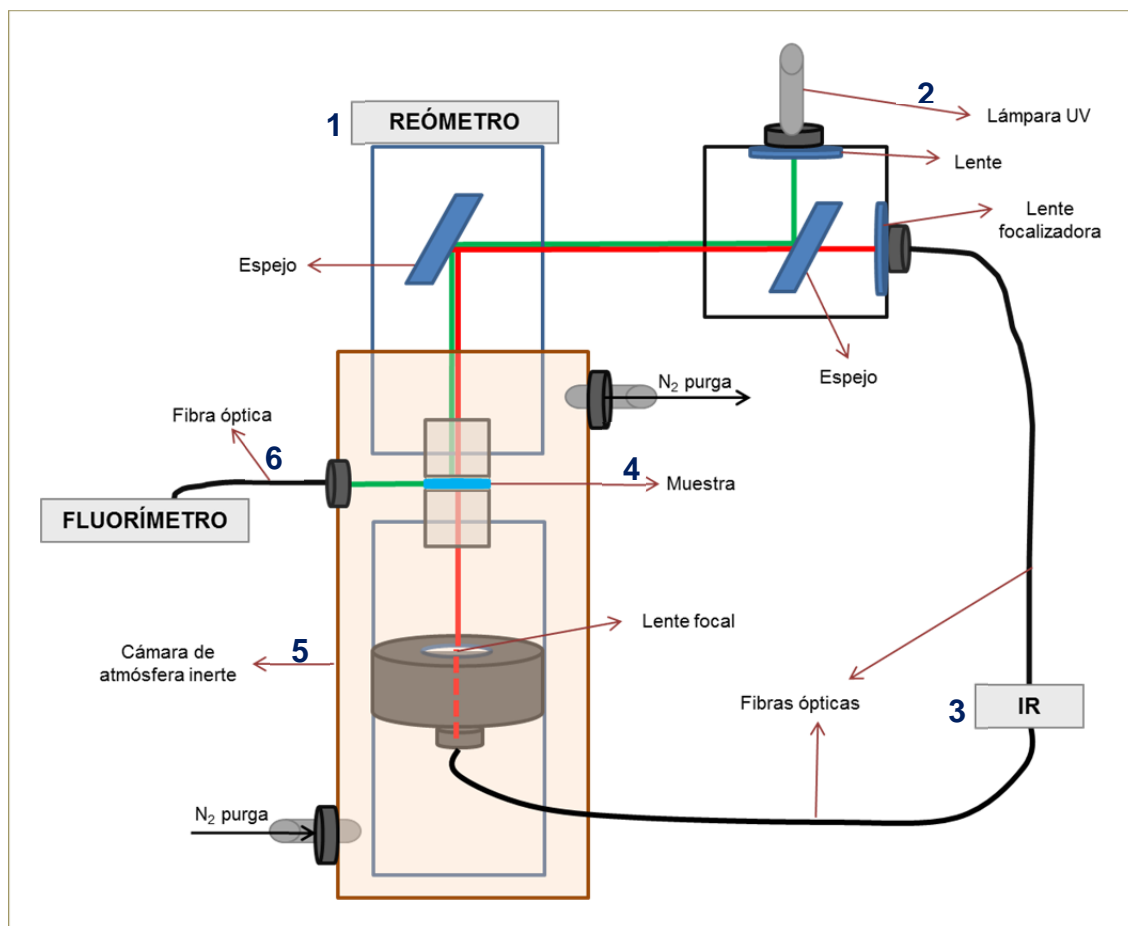


Al reómetro se acopló una lámpara *EXFO Articure 4000 UV-Vis* (2), utilizando un filtro de paso de banda de $\lambda=365\pm10$ nm, que irradia la muestra a una intensidad de 1.0 mW/cm^2 durante 30 min, y un espectrofotómetro IR (3), descritos previamente en el **Apartado 3.2.3**, gracias a un diseño óptico propio, que permite dirigir a la muestra la irradiación uniforme de luz y la fuente IR a través de los platos de cuarzo.

En torno a la muestra (4), pero permitiendo el giro de los brazos paralelos del reómetro y la inmovilización de todas las fibras, se coloca una cámara (5) que mantiene la muestra en atmósfera inerte durante el experimento.

En esta cámara se acopla un detector de fluorescencia USB4000 de *Ocean Optics* (constituído por un array lineal de diodos Toshiba CCD -*Coupled charge device*- de 3648 elementos para aumentar la relación señal/ruido y que detecta instantáneamente los fotones en todas las longitudes de onda), a través de una fibra óptica (6) de $50 \mu\text{m}$ de diámetro, alineada horizontalmente con la muestra.

El accesorio completo que conecta los equipos y la fuente de luz se detalla en el Esquema 3.2.



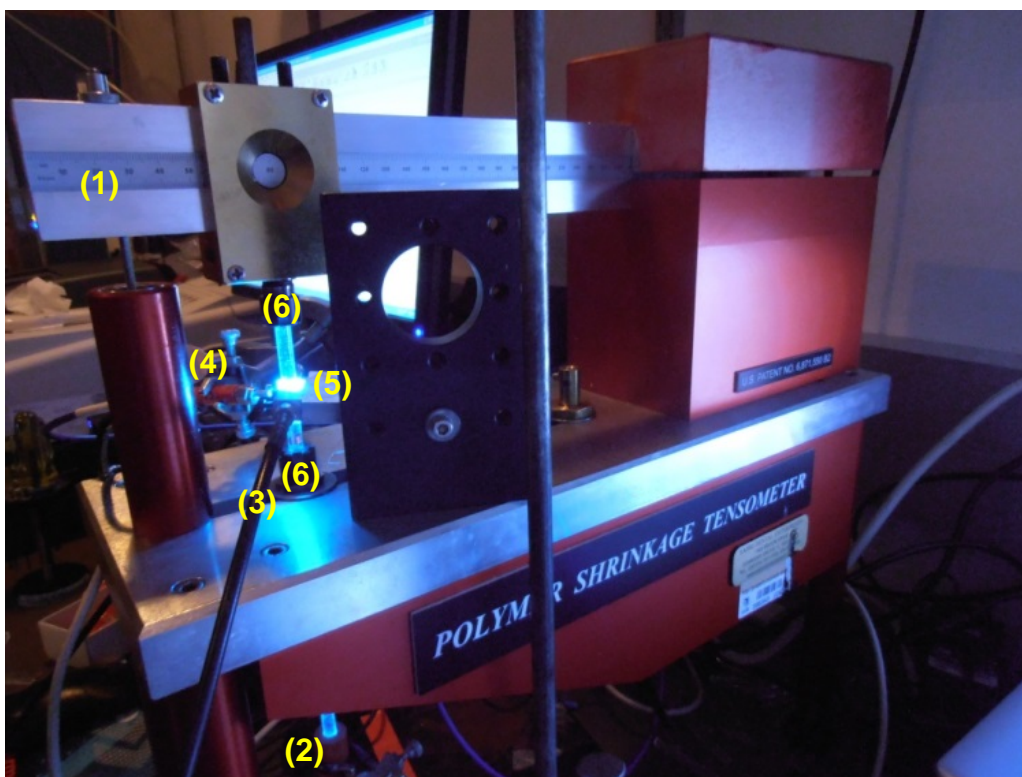
Esquema 3.2. Sistema experimental empleado en la conexión entre el reómetro, el IR y el fluorímetro.

La formulación correspondiente se coloca entre los platos de cuarzo y se somete a 30 minutos de purga de nitrógeno antes de la medida, con los platos de cuarzo separados 2 mm para eliminar el oxígeno disuelto y evitar los efectos por inhibición en los bordes. Posteriormente se aproximan los dos platos de cuarzo hasta una distancia de 0.3 mm, ocupando la muestra un volumen cilíndrico de 0.3 mm de alto y 8 ó 20 mm de diámetro en función de la muestra depositada.

3.2.13. Acoplamiento Tensómetro-IR-Fluorímetro.

Para las medidas de tensión de contracción durante la fotopolimerización se ha utilizado un tensómetro (Fotografía pág 48, 1 y Esquema 3.3) (*Paffenbarger Research Center, American Dental Association Foundation*), que utiliza dos

varillas **(6)** de vidrio de 6 mm de diámetro, previamente pulidas en los extremos con papel de lija. Las varillas se aproximan, dejando una separación entre ellas de 1 mm, espacio en el que se colocará la formulación.

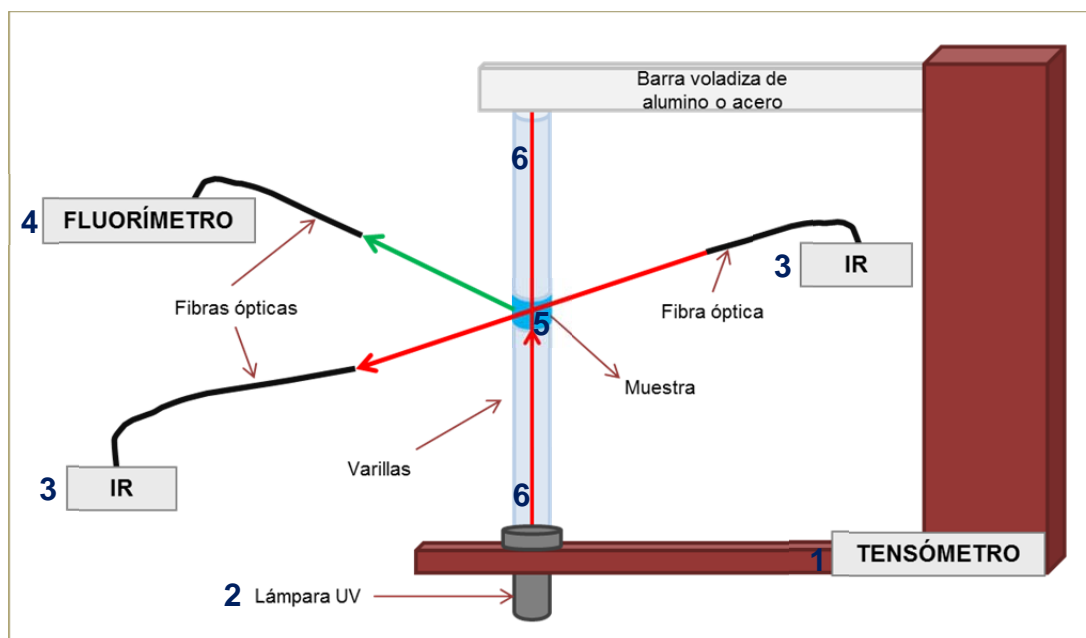


Al tensómetro se acopló la lámpara *EXFO Articure 4000 UV-Vis* **(2)**, el espectrofotómetro IR **(3)** y el detector de fluorescencia USB4000 de *Ocean Optics* **(4)**.

El haz de irradiación se hace incidir en la muestra **(5)** a través de la varilla inferior. El haz de análisis IR se alinea en la horizontal del disco de la muestra. Los detalles del instrumento y métodos de funcionamiento se explican en trabajos previos.³ En este caso se ha añadido una fibra óptica situada a 5 mm de la muestra (50 μm de diámetro) que recoge la emisión de fluorescencia, también en el plano horizontal, y a 90° con respecto a la guía de luz de irradiación.

³ Lu, H.; Stansbury, J. W.; Dickens, S. H.; Eichmiller, F. C.; Bowman, C. N., Probing the origins and control of shrinkage stress in dental resin composites. II. Novel method of simultaneous measurement of polymerization shrinkage stress and conversion. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **2004**, 71B (1), 206-213.

El accesorio completo que conecta los equipos y la fuente de luz se detalla en el Esquema 3.3. Todo ello permite las medidas simultáneas de tensión de contracción, conversión y emisión de fluorescencia durante la fotopolimerización de la muestra.



Esquema 3.3. Sistema empleado en la medida simultánea de tensión de contracción, cinéticas de polimerización y emisión de fluorescencia.

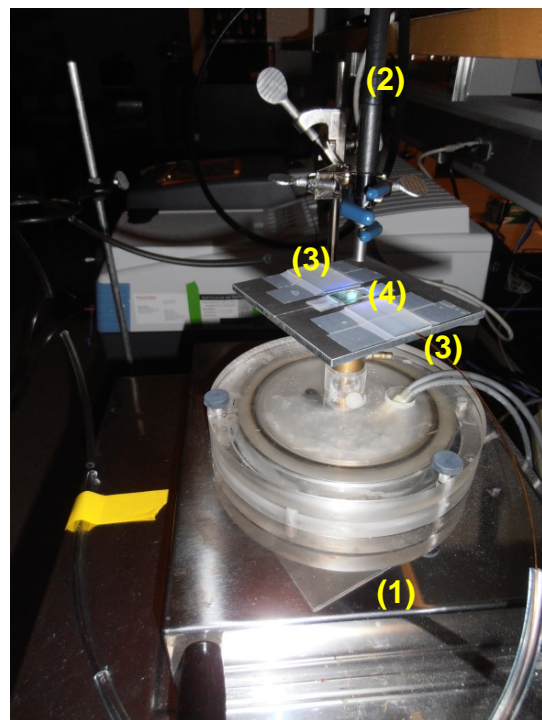
El espacio entre las varillas se rellena con la formulación correspondiente, evitando la formación de burbujas. La muestra tiene un volumen cilíndrico de 6 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Las medidas se realizaron por triplicado para cada formulación, a 20 °C, irradiando con luz UV ($\lambda=365\pm10$ nm) a una intensidad de 1.0 mW/cm² durante 30 min.

3.2.14. Acoplamiento *Linometer*-IR.

Las medidas de la contracción durante la polimerización usualmente se realizan con procedimientos laboriosos que frecuentemente limitan el estudio a materiales compuestos de baja contracción. Con las técnicas existentes, como la dilatometría, se requiere medir la densidad de los materiales y controlar la temperatura con sumo cuidado, de manera que la variación del volumen de la muestra se deba exclusivamente a la reacción de polimerización.

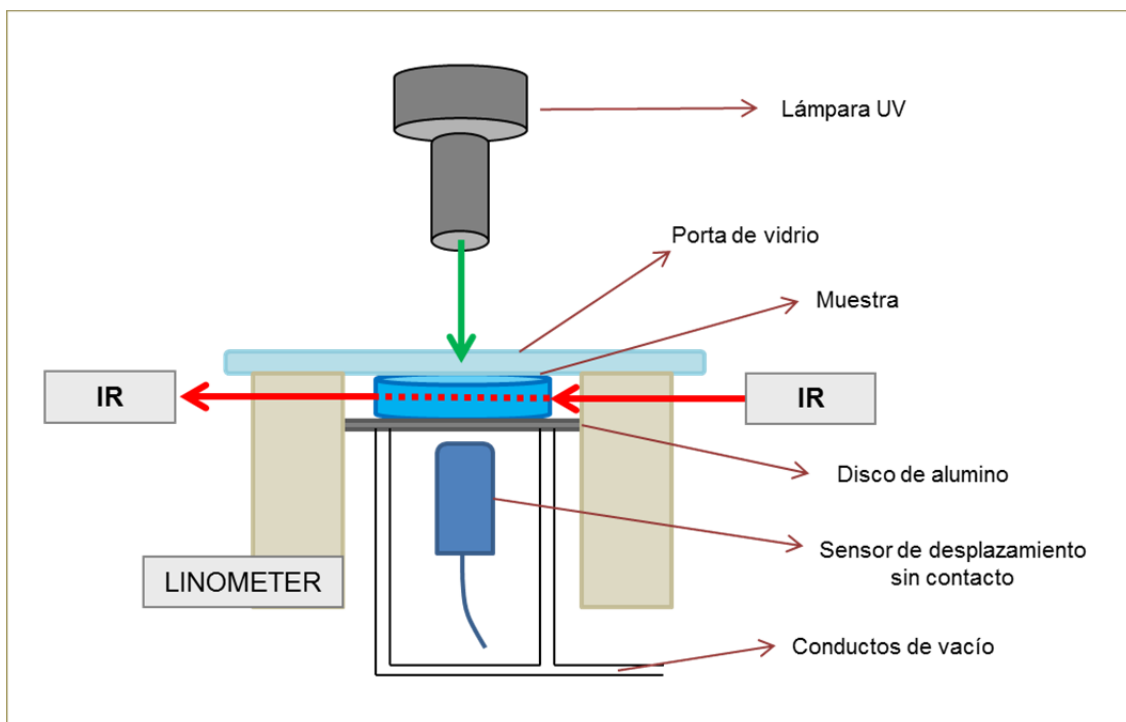
Todos estos problemas se simplifican mediante el uso de un montaje llamado “*linometer*”, introducido por Gee *et al.* en 1993.⁴ Este dispositivo determina la verdadera contracción lineal tanto para resinas como para materiales compuestos, independientemente de la geometría de la muestra.

Para medir la contracción de polimerización lineal de las diferentes formulaciones de resina se utilizó un *linometer* ACTA (1) (Academic Center for Dentistry, Amsterdam, The Netherlands).



El montaje (Esquema 3.4) consiste en un transductor de desplazamiento sin contacto (*KD2300 1S*, Kaman Instrumentation Corporation, Colorado) cuyo sensor se sitúa en un tubo de cuarzo orientado verticalmente.

⁴ A. J. de Gee; A. J. Feilzer; Davidson, C. L., True linear polymerization shrinkage of unfilled resins and composites determined with a linometer. *Dental Materials* **1993**, 9 (1), 11-14.



Esquema 3.4. Sistema empleado en la medida simultánea de tensión de contracción, cinéticas de polimerización y emisión de fluorescencia.

Se coloca un disco de aluminio (12 mm de diámetro y 0.24 mm de espesor) sobre el sensor y un portamuestras de vidrio sobre el extremo abierto del tubo de cuarzo. La muestra se coloca entre ambos y la distancia entre el disco y el portamuestras de vidrio se regula a 1.5 mm. A continuación, se conecta una aspiración suave de aire hasta que el disco alcanza una condición de equilibrio. A medida que el material contrae, el disco de aluminio se desplaza verticalmente, y este desplazamiento se registra continuamente durante la medida. Su valor se relaciona con la contracción de polimerización lineal a partir de la Ecuación 3.6:

$$\%lin = [\Delta L / (L + \Delta L)] * 100 \quad \text{Ecuación 3.6}$$

siendo ΔL el desplazamiento medido y L el espesor de la muestra después de la polimerización.

La contracción volumétrica derivada de la contracción lineal viene dada por la Ecuación 3.7:

$$\%vol = 3 \%lin - 0.03 * (\%lin)^2 + 0.0001 * (\%lin)^3 \quad \text{Ecuación 3.7}$$

Las medidas de contracción volumétrica de polimerización se realizaron en tiempo real y simultáneamente a las medidas de cinética de polimerización (espectrofotómetro *Thermo Scientific Nicolet 6700*), irradiando cada muestra a través del portamuestras de vidrio, con una lámpara *EXFO Articure 4000 UV-Vis*.

El haz de irradiación incide en la muestra mediante una fibra óptica **(2)** desde la parte superior, a 4 cm de la misma. La intensidad de luz se calibra previamente con un radiómetro EIT. El haz de análisis IR **(3)** se alinea en la horizontal del disco de la muestra **(4)**, a 2 mm de la misma.

Para la preparación de la muestra se extruyen 3 mL de grasa de alto vacío sobre un disco de aluminio, que se presiona sobre el centro de un portamuestras de vidrio, extendiendo la grasa entre ambos hasta que ambas superficies estén completamente cubiertas de grasa. La grasa se aplica para evitar la adhesión de la muestra. Se separan y se coloca sobre el centro del disco una pequeña gota de muestra. El disco de aluminio se centra dentro del portamuestras del linómetro. Se coloca un porta de vidrio encima de la gota, presionando hasta que el espesor de la muestra sea de 1.5 mm. El sándwich porta/muestra/disco se fija sobre el soporte del linómetro con una abrazadera y se deja estabilizar 5 min antes de iniciar la irradiación.

Empleando 1 gota de formulación se obtiene una muestra con un volumen cilíndrico de 3 mm de diámetro y 1.5 mm de espesor. Las medidas se realizaron por triplicado para cada formulación, a 20 °C, irradiando con luz UV ($\lambda=365\pm10$ nm) a una intensidad de 25 mW/cm² durante 10 min.

- FOTOCURADO:

3.2.15. Sistemas de irradiación.

Las reacciones de funcionalización de cromóforos indicadas en el Apartado 3.3.1 se llevaron a cabo en un reactor microondas de alto rendimiento *Monowave 300*, de *Anton Paar*, utilizando un vial de reacción G4 de 30 mL.

En el seguimiento de las reacciones de fotopolimerización de resinas acrílicas (**Capítulo 6**) y de resinas epoxídicas (**Capítulo 7**) se utilizó una lámpara UV de mercurio *LC8 Lightningcure™ Hamamatsu*, con una fuente de irradiación de Hg-Xe en el primer caso y de Hg en el segundo.

Las reacciones de polimerización con nanogeles (**Capítulo 8**) se llevaron a cabo irradiando con una lámpara *EXFO Articure 4000 UV-Vis*, utilizando un filtro de paso de banda de $\lambda=365$ nm.

Para la preparación de filmes de resina epoxídica se empleó un transportador de sobremesa LC6B equipado con una lámpara F300S, de *Fusion UV Systems, Inc.* La fotopolimerización se llevó a cabo a temperatura ambiente y el tiempo de irradiación se controló ajustando la velocidad del transportador.

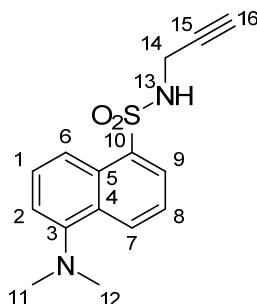
Para la preparación de filmes de resina acrílica (**Capítulo 7**), se utilizó un sistema de irradiación UV *Bio-Link®*, de *Vilber Lourmat.*, utilizando 5 tubos fluorescentes de $\lambda=365$ nm (BLX-365, de *Vilber Lourmat*), e irradiando durante 9 minutos a temperatura ambiente.

El espesor de todos los filmes preparados en este Trabajo se midió utilizando un micrómetro digital de sensibilidad 0.001 mm (modelo 4000DIG), de *Baxlo*.

3.3. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN.

3.3.1. Funcionalización de cromóforos.

3.3.1.1. Síntesis de 5-(Dimetilamino)-*N*-(2-propinil)-1-naftalensulfonamida (DANSino)^{5,6,7}



En un matraz de dos bocas de 100 mL se introducen 500 mg de cloruro de dansilo (1.85 mmol, 1 equiv.) y se disuelven en 20 mL de diclorometano seco. La mezcla se mantiene con agitación y en corriente de nitrógeno durante 15 min. El matraz se sumerge en un baño de hielo, se añaden 0.26 mL de trietilamina (1.85 mmol, 1 equiv.) y 0.36 mL de propargilamina (5.55 mmol, 3 equiv.). La mezcla de reacción se mantiene agitando a 0°C durante 1 hora y durante 1 hora adicional a temperatura ambiente. La reacción se sigue por TLC (cromatografía de capa fina) usando diclorometano como fase móvil.

Se evapora el disolvente a presión reducida y el sólido amarillo obtenido se purifica en columna de cromatografía con gel de sílice, utilizando como mezcla

⁵ Bolletta, F.; Fabbri, D.; Lombardo, M.; Prodi, L.; Trombini, C.; Zaccheroni, N., Synthesis and Photophysical Properties of Fluorescent Derivatives of Methylmercury. *Organometallics* **1996**, *15*, 2415-2417.

⁶ Deiters, A.; Cropp, T. A.; Mukherji, M.; Chin, J. W.; Anderson, J. C.; Schultz, P. G., Adding Amino Acids with Novel Reactivity to the Genetic Code of *Saccharomyces Cerevisiae*. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125* (39), 11782-11783.

⁷ Rubinshtein, M.; James, C. R.; Young, J. L.; Ma, Y. J.; Kobayashi, Y.; Gianneschi, N. C.; Yang, J., Facile Procedure for Generating Side Chain Functionalized Poly(α -hydroxy acid) Copolymers from Aldehydes via a Versatile Passerini-Type Condensation. *Organic Letters* **2010**, *12* (15), 3560-3563.

eluyente diclorometano/éter (1:1 v/v). Se obtiene un sólido de color amarillo pálido (460 mg, Rto. = 86%).

Análisis elemental calculado para $C_{15}H_{16}N_2O_2S$: C, 62.48; H, 5.59; N, 9.71; S, 11.12. Encontrado: C, 62.77; H, 5.49; N, 9.64; S, 11.03.

FTIR-ATR: 3348 cm^{-1} ($\equiv\text{C-H}$), 3258 cm^{-1} ($-\text{SO}_2-\text{NH}$).

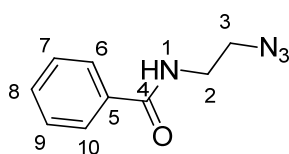
ESI-MS (m/z) calculado para $C_{15}H_{16}N_2O_2S$ $[M]^+$ 288; encontrado $[M+H]^+$ 289.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8.56 (d, H^7 , $J_{\text{H}^7-\text{H}^8} = 8.6\text{ Hz}$), 8.27 (d, H^6 y H^9 , $J_{\text{H}^6-\text{H}^1}$ y $\text{H}^9-\text{H}^8} = 7.3\text{ Hz}$), 7.57 (t, H^8 , $J_{\text{H}^8-\text{H}^7}$ y $\text{H}^8-\text{H}^9} = 7.7\text{ Hz}$), 7.52 (t, H^1 , $J_{\text{H}^1-\text{H}^2}$ y $\text{H}^1-\text{H}^6} = 8.5\text{ Hz}$), 7.19 (d, H^2 , $J_{\text{H}^2-\text{H}^1} = 7.6\text{ Hz}$), 4.99 (t, H^{13} , $J_{\text{H}^{13}-\text{H}^{14}} = 5.7\text{ Hz}$), 3.77 (dd, 2H^{14} , $\text{N}-\text{CH}_2$, $J_{\text{H}^{14}-\text{H}^{13}} = 5.7\text{ Hz}$, $J_{\text{H}^{14}-\text{H}^{16}} = 2.6\text{ Hz}$), 2.88 (s, 3H^{11} y 3H^{12} , $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$), 1.91 (t, H^{16} , $-\text{C}\equiv\text{H}$, $J_{\text{H}^{16}-\text{H}^{14}} = 2.6\text{ Hz}$).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 152.0 (C^3), 134.2 (C^{10}), 130.8 (C^7), 129.9 (C^1), 129.8 (C^5 y C^9), 128.5 (C^4), 123.1 (C^8), 118.6 (C^6), 115.2 (C^2), 77.8 (C^{15}), 72.6 (C^{16}), 45.5 (C^{11} y C^{12}), 33.0 (C^{14}).

3.3.1.2. Síntesis del dansilo modelo (ModDANS)

a) Síntesis *N*-(2-Azidoetil)benzamida (Modelo azida)



En un matraz de 250 mL se añaden una disolución de 2-aminoetanol (3.00 g, 49.1 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (50 mL), cloruro de benzoilo (7.51 g, 53.4 mmol, 1.09 equiv.) y una disolución acuosa de bicarbonato sódico (10 g en 50 mL). La mezcla de reacción se deja agitando durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla se extrae con AcOEt (3 x 40 mL). Las fases orgánicas se juntan y se secan sobre MgSO_4 . La mezcla se filtra y se evapora el disolvente en rotavapor. El aceite incoloro obtenido se disuelve en AcOEt (2 mL) y se precipita en éter etílico frío (200 mL). Tras 2 h en la nevera, los cristales

blancos se filtran y se secan a vacío, obteniendo como producto *N*-(2-Hidroxietil)benzamida (5.50 g, Rto. = 68%).⁸

En un matraz de dos bocas de 100 mL se pesan 500 mg de *N*-(2-hidroxietil)benzamida (3.03 mmol, 1 equiv.) y se disuelven en 10 mL de piridina seca. El matraz se introduce en un baño de hielo y la mezcla se mantiene con agitación y en corriente de nitrógeno durante 15 min. Se añaden 0.87 g de cloruro de tosilo (4.54 mmol, 1.5 equiv.). La mezcla de reacción se mantiene agitando a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se sigue por TLC usando acetato de etilo como fase móvil.

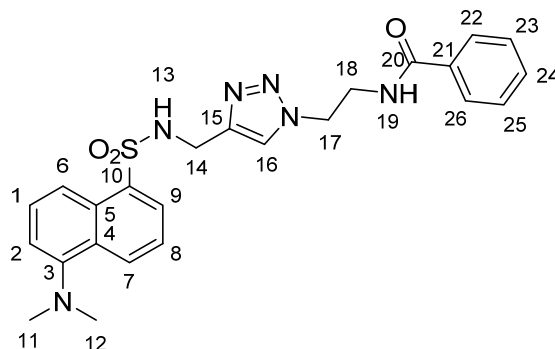
A continuación se añaden 40 mL de diclorometano y se extrae con una disolución acuosa de HCl al 50% (3 x 20 mL), una disolución saturada de NaHCO₃ (40 mL) y una disolución saturada de NaCl (40 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y finalmente se evapora el disolvente en rotavapor. Se obtiene el compuesto mesilado, que se redisuelve en 20 mL de *N,N*-dimetilformamida en un matraz de 100 mL, provisto de refrigerante de reflujo. Se añaden 120 mg de NaN₃ (1.85 mmol, 1.5 equiv.). La mezcla de reacción se mantiene agitando a T = 90°C durante 18 horas, después de lo cual se añade una disolución saturada de NaHCO₃ (30 mL). La mezcla se extrae con diclorometano (4 x 30 mL) y las fases orgánicas se juntan, se lavan con una disolución saturada de NaCl (70 mL) y se secan sobre Na₂SO₄. La mezcla se filtra y se evapora el disolvente en rotavapor. Se obtiene producto puro como un aceite incoloro (210 mg, Rto. = 54%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 7.77 (d, 2H, H⁶ y H¹⁰), 7.45 (m, 3H, H⁸, H⁷ y H⁹), 6.47 (br s, H¹, -NH-), 3.47 (m, 2H², -CH₂-CH₂-N₃), 3.38 (m, 2H³, -CH₂-CH₂-N₃).

¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 168.0 (C⁴), 133.9 (C⁵), 131.4 (C⁸), 128.3 (C⁷ y C⁹), 126.9 (C⁶ y C¹⁰), 50.4 (C³), 39.3 (C²).

⁸ Mroczkiewicz, M.; Ostaszewski, R., A new and general method for the synthesis of tripeptide aldehydes based on the multi-component Ugi reaction. *Tetrahedron* **2009**, 65 (20), 4025-4034.

b) Síntesis de ModDANS



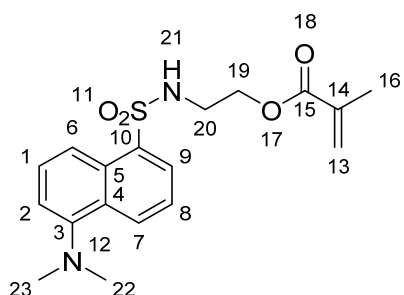
Una vez completada la reacción, se le agregan 15 mL de diclorometano y se realizan extracciones con este mismo disolvente (15 mL x 3). Las fases orgánicas se juntan y se secan sobre NaSO₄, la mezcla se filtra y finalmente se evapora el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido se purifica en columna de cromatografía con gel de sílice, utilizando diclorometano como eluyente. Se obtiene un sólido de color amarillo (174 mg, Rto. = 80%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.53 (d, H⁷, *J* = 8.5 Hz), 8.23 (d, H⁶ y H⁹, *J* = 8.4 Hz), 7.72 (d, 2H, H²² y H²⁶, *J* = 7.3 Hz), 7.49 (m, 3H, H²⁴, H²³ y H²⁵), 7.40 (m, 2H, H⁸ y H¹), 7.29 (s, H¹⁶), 7.15 (d, H², *J* = 7.6 Hz), 6.75 (br s, H¹⁹), 5.53 (t, H¹³, *J* = 5.8 Hz), 4.44 (t, 2H¹⁷, -NH-CH₂- CH₂-, *J* = 5.6 Hz), 4.19 (d, 2H¹⁴, N-CH₂-, *J* = 6.1 Hz), 3.86 (dt, 2H¹⁸, -NH-CH₂- CH₂-, *J* = 5.6 Hz, 6.0 Hz), 2.88 (s, 6H, 3H¹¹ y 3H¹², N-(CH₃)₂)).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 167.8 (C^{20}), 152.0 (C^3), 144.0 (C^{10}), 137.6 (C^{21}), 134.4 (C^5), 133.6 (C^{15}), 131.9 (C^{24}), 130.7 (C^7), 129.8 (C^1), 129.7 (C^8), 129.5 (C^9), 128.7 (C^6), 128.6 (C^{22} y C^{26}), 127.0 (C^{23} y C^{25}), 123.1 (C^{16}), 118.6 (C^4), 115.3 (C^2), 49.6 (C^{17}), 45.4 (C^{11} y C^{12}), 39.7 (C^{18}), 38.6 (C^{14}).

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.1.3. Síntesis *N*-dansil-2-aminoetil metacrilato (DANSMA)



En un matraz de 100 mL se pesan 280 mg de clorhidrato de 2-aminoetil metacrilato (1.70 mmol, 1 equiv.) y se disuelven en 20 mL de acetato de etilo. Se añaden 0.9 mL de trietilamina (6.43 mmol, 3.8 equiv.) y la mezcla se mantiene agitando a temperatura ambiente durante una hora. En la liberación del clorhidrato, precipita un sólido blanco, que se filtra a vacío, continuando directamente con el siguiente paso de reacción.

Se disuelve el 2-aminoetil metacrilato recién filtrado (195 mg teóricos, 1.7 mmol, 1 equiv.) en 10 mL adicionales de acetato de etilo y se añaden 0.75 mL de trietilamina (5.35 mmol, 3 equiv.). Se disuelven 550 mg de cloruro de dansilo (2.04 mmol, 1.2 equiv.) en 20 mL de acetato de etilo y la disolución turbia resultante se añade gota a gota sobre la disolución anterior. La mezcla se mantiene agitando a temperatura ambiente durante 4 horas.

La mezcla de reacción se evapora a presión reducida y el sólido amarillo se purifica en columna de cromatografía con gel de sílice, utilizando como mezcla eluyente diclorometano/acetato de etilo (12:1 v/v). Se obtiene un sólido de color amarillo verdoso (462 mg, Rto. = 75%).

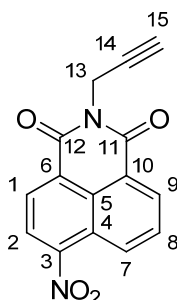
Análisis elemental calculado para $C_{18}H_{22}N_2O_4S$: C, 59.65; H, 6.12; N, 7.73; S, 8.85. Encontrado: C, 59.89; H, 6.31; N, 7.24; S, 8.19.

ESI-MS (m/z) calculado para $C_{18}H_{22}N_2O_4S$ $[M]^+$ 362; encontrado $[M+H]^+$ 363.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.58 (d, H^7 , $J = 8.5$ Hz), 8.26 (m, H^6 y H^9), 7.55 (m, H^8 y H^1), 7.19 (d, H^2 , $J = 7.3$ Hz), 5.89 (s, H^{13}), 5.47 (s, H^{13}), 5.17 (t, H^{21} , $J = 6.0$ Hz), 4.06 (t, $2H^{19}$, $-NH-CH_2-CH_2-$, $J = 5.2$ Hz), 3.22 (m, $2H^{20}$, $-NH-CH_2-CH_2-$), 2.91 (s, $3H^{22}$ y $3H^{23}$, $N-(CH_3)_2$), 1.79 (s, $3H^{16}$, $C-(CH_3)_2$).

^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 166.8 (C^{15}), 151.5 (C^3), 135.4 (C^{10}), 134.2 (C^{14}), 130.6 (C^7), 129.8 (C^5), 129.6 (C^9), 129.5 (C^4), 128.5 (C^8), 126.2 (C^{13}), 123.3 (C^1), 118.9 (C^6), 115.4 (C^2), 62.8 (C^{19}), 45.5 (C^{22} y C^{23}), 42.4 (C^{20}), 18.1 (C^{16}).

3.3.1.4. Síntesis de 4-Nitro-*N*-propargil-1,8-naftalimida⁹



En un vial de reacción de 30 mL provisto de agitador magnético, se introducen 0.486 mg de anhídrido 4-nitro-1,8-naftálico (2.0 mmol, 1 equiv.), 144 μ L de propargilamina (2.2 mmol, 1.1 equiv.), 40 μ L de trietilamina y 14 mL de 1,4-dioxano. Se somete a irradiación microondas a 90°C durante 30 min, tras lo cual se evapora el disolvente a sequedad. El sólido obtenido se cromatografía en columna con gel de sílice, utilizando diclorometano como eluyente. Se obtiene un sólido de color crema (503 mg, Rto. = 90%).

⁹ Grabchev, I.; Dumas, S.; Chovelon, J.-M.; Nedelcheva, A., First generation poly(propyleneimine) dendrimers functionalised with 1,8-naphthalimide units as fluorescence sensors for metal cations and protons. *Tetrahedron* **2008**, 64 (9), 2113-2119.

Análisis elemental calculado para $C_{15}H_8N_2O_4$: C, 64.29; H, 2.88; N, 10.00. Encontrado: C, 64.53; H, 3.02; N, 10.20.

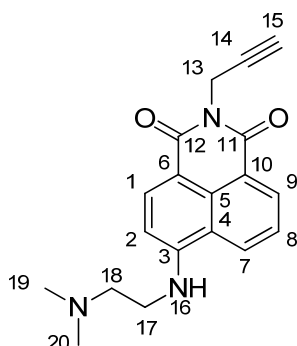
ESI-MS (m/z) calculado para $C_{15}H_8N_2O_4$ $[M]^+$ 280.24; encontrado $[M+H]^+$ 281.0.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.86 (d, H^7 , $J_{H7-H8} = 8.7$ Hz), 8.79 (d, H^9 , $J_{H9-H8} = 7.4$ Hz), 8.75 (d, H^2 , $J_{H2-H1} = 8.0$ Hz), 8.42 (d, H^1 , $J_{H1-H2} = 8.0$ Hz), 8.01 (dd, H^8 , $J_{H8-H9} = 7.5$ Hz, $J_{H8-H7} = 8.7$ Hz), 4.97 (d, $2H^{13}$, $N-CH_2-$, $J_{H13-H15} = 2.5$ Hz), 2.22 (t, H^{15} , $-C\equiv H$, $J_{H15-H13} = 2.5$ Hz).

^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 162.7 (C^{11}), 161.9 (C^{12}), 150.1 (C^3), 133.0 (C^9), 130.4 (C^1), 130.2 (C^8), 129.9 (C^7), 129.3 (C^6), 126.8 (C^{10}), 124.1 (C^5), 124.0 (C^4), 122.9 (C^2), 78.0 (C^{14}), 71.3 (C^{15}), 30.0 (C^{13}).

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.1.5. Síntesis de 4-(*N,N*-dimetilaminoetilen)amino-*N*-propargil-1,8-naftalimida (NAFTino)



En un vial de reacción de 30mL de capacidad provisto de agitador magnético, se introducen 0.680 mg de 4-nitro-*N*-propargil-1,8-naftalimida (2.4 mmol, 1 equiv.), 400 μ L de *N,N*-dimetiletilendiamina (3.64 mmol, 1.5 equiv.), 5mL de DMF y 5 mL de 2-metoxietanol. Se somete a irradiación microondas a 120°C durante 15min, tras lo cual se evapora el disolvente hasta un volumen aproximado de 5mL, y se precipita sobre 400 mL de mezcla agua/hielo. El sólido se seca a vacío y $T = 40$ °C. Se obtiene un sólido color naranja oscuro (530 mg, Rto. = 68%).

Análisis elemental calculado para $C_{19}H_{19}N_3O_2$: C, 71.01; H, 5.96; N, 13.08.
Encontrado: C, 69.30; H, 5.91; N, 12.31.

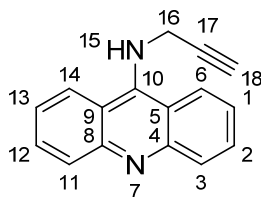
ESI-MS (m/z) calculado para $C_{19}H_{19}N_3O_2$ $[M]^+$ 321.15; encontrado $[M+H]^+$ 322.2.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.60 (d, H^9 , $J_{H9-H8} = 7.2$ Hz), 8.47 (d, H^7 , $J_{H7-H8} = 8.5$ Hz), 8.17 (d, H^1 , $J_{H1-H2} = 8.4$ Hz), 7.62 (t, H^8 , $J_{H8-H9} = 7.2$ Hz, $J_{H8-H7} = 8.5$ Hz), 6.65 (d, H^2 , $J_{H2-H1} = 8.5$ Hz), 6.38 (s, $1H^{16}$, $NH-CH_2$), 4.95 (d, $2H^{13}$, $N-CH_2$, $J_{H13-H15} = 2.5$ Hz), 3.40 (dd, $2H^{17}$, $NH-CH_2-CH_2$, $J_{H17-H18} = 5.0$ Hz, $J_{H17-H16} = 4.4$ Hz), 2.75 (dt, $2H^{18}$, CH_2-CH_2-N , $J_{H18-H17} = 4.5$ Hz, 5.5 Hz), 2.35 (s, $3H^{19}$ y $3H^{20}$, $N-(CH_3)_2$), 2.16 (t, H^{15} , $-C\equiv H$, $J_{H15-H13} = 2.4$ Hz).

^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 164.2 (C^{11}), 163.4 (C^{12}), 150.1 (C^3), 135.2 (C^9), 131.6 (C^7), 130.0 (C^{10}), 127.0 (C^1), 124.8 (C^8), 122.8 (C^5), 120.6 (C^4), 109.7 (C^6), 104.6 (C^2), 79.4 (C^{14}), 70.2 (C^{15}), 57.0 (C^{18}), 45.2 (C^{19} , C^{20}), 40.3 (C^{17}), 29.3 (C^{13}).

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.1.6. Síntesis de 9-aminopropargil acridina (ACRIDINO)¹⁰



En un matraz de dos bocas de 100 mL, provisto de refrigerante de reflujo, se mezclan 500 mg de 9-cloroacridina (2.34 mmol, 1equiv.) y 3.74 g de fenol destilado (0.04 mol, 17 equiv.), bajo atmósfera inerte. La mezcla se mantiene con agitación y a reflujo (110°C) durante 15 min. Se enfría a $T = 60^\circ C$ y a

¹⁰ Reisch, J.; Gunaherath, G. M. K. B., Acetylene Chemistry. Part 29. A Convenient Synthesis of 9-(N-Alkynyl)acridinamines via a Nucleophilic Displacement Reaction Between 9-Chloroacridine and N-Alkynyl Amines. *Journal of heterocyclic chemistry* **1993**, 30 (6), 1677-1678.

continuación se añaden 150 μ L de propargilamina (2.34 mmol, 1 equiv.). La mezcla se mantiene a la misma temperatura y con agitación durante 2 h. La reacción se sigue por cromatografía de capa fina (AcOEt/MeOH 9:1 v/v).

Se deja enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente, se añaden 20 mL de una disolución acuosa NaOH 2M y se extrae con diclorometano (10 mL x 3). Los extractos orgánicos se juntan y se evapora el disolvente. El sólido se purifica en columna de cromatografía con gel de sílice, utilizando como eluyente acetato de etilo. Se obtiene un sólido de color naranja (380 mg, Rto. = 70%).

Análisis elemental calculado para $C_{16}H_{12}N_2$: C, 82.73; H, 5.21; N, 12.06. Encontrado: C, 82.45; H, 4.95; N, 12.01.

ESI-MS (m/z) calculado para $C_{16}H_{12}N_2$ $[M]^+$ 232; encontrado $[M+H]^+$ 233.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8.16 (d, H^3 y H^{11} , $J = 6.5$ Hz), 7.97 (d, H^6 y H^{14} , $J = 6.5$ Hz), 7.61 (t, H^2 y H^{12} , $J = 5.3$ Hz, $J = 5.6$ Hz), 7.34 (t, H^1 y H^{13} , $J = 5.0$ Hz, $J = 5.6$ Hz), 4.47 (d, $2H^{16}$, $NH-CH_2$, $J = 1.8$ Hz), 2.36 (t, H^{18} , $-C\equiv CH$, $J = 1.8$ Hz).

^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 151.8 (C^{10}), 147.2 (C^4 y C^8), 130.8 (C^2 y C^{12}), 129.5 (C^6 y C^{14}), 124.0 (C^1 y C^{13}), 123.8 (C^3 y C^{11}), 117.4 (C^5 y C^9), 80.7 (C^{17}), 73.8 (C^{18}), 40.0 (C^{16}).

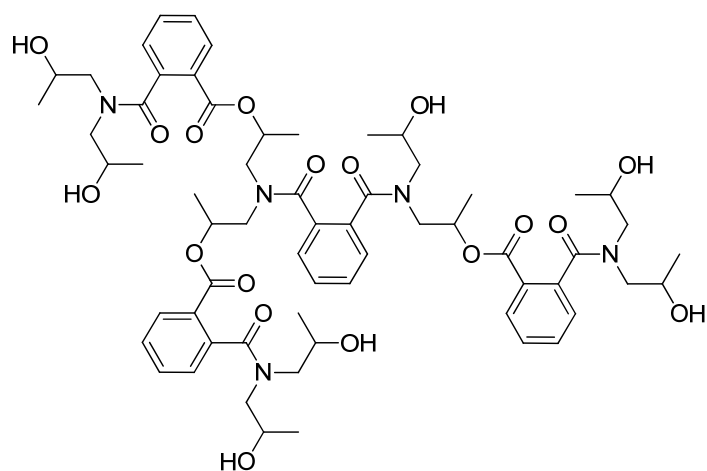
La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.2. Funcionalización de polímeros hiperramificados.

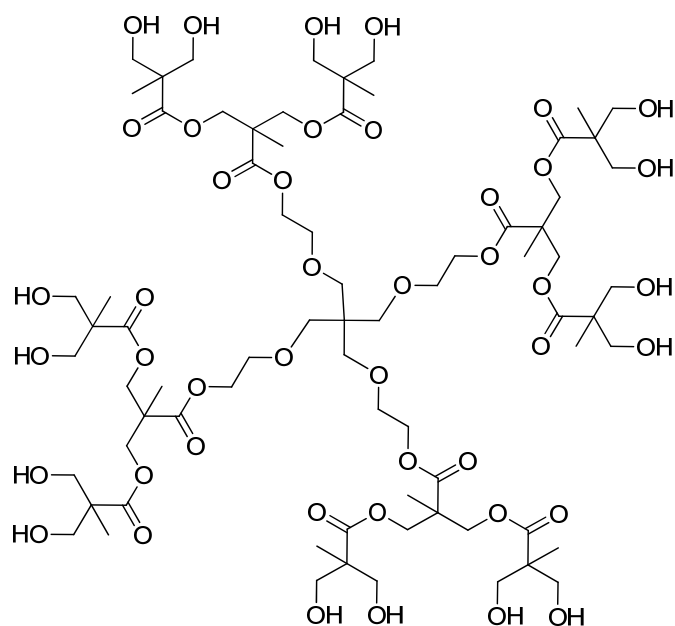
Para la síntesis de polímeros, se utilizan como materiales de partida dos polímeros hiperramificados comerciales¹¹, Hybrane P1000 y Boltorn H20, cuyas estructuras ideales se muestran en el Esquema 3.5 y cuyos datos experimentales proporcionados por *Polymer Factory* se detallan en la Tabla 3.1.

¹¹ Froehling, P., Development of DSM's hybrane® hyperbranched polyesteramides. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2004**, 42 (13), 3110-3115.

a) Hybrane P1000.



b) Boltorn H20.



Esquema 3.5.- Estructuras ideales de los polímeros hiperramificados Hybrane P1000 (a) y Boltorn H20 (b).

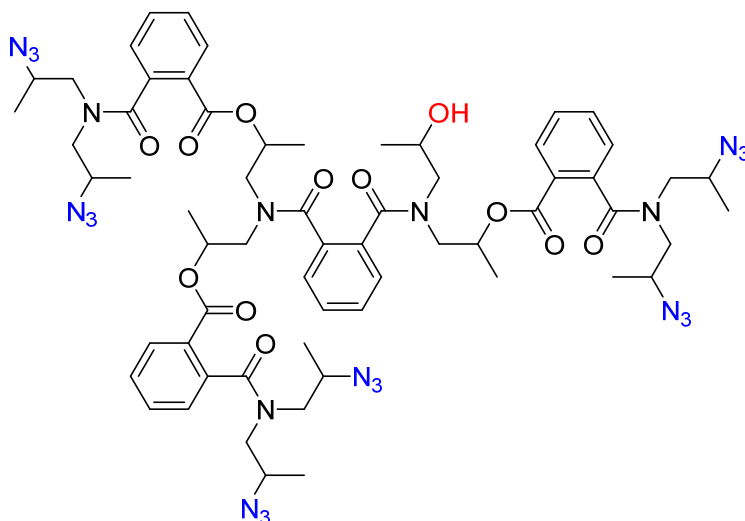
Tabla 3.1.- Peso molecular, número de hidroxilos y funcionalidades terminales de los HBPs.

HBP	Nombre comercial ^a	M _w teórico medio ^b	Funcionalidad de la rama ^a	Grupos hidroxilo ^a	Nº grupos hidroxilo medio ^a
P1000	Hybrane P1000	1186 g/mol	Poliéster amida	Secundarios	7
H20	Boltorn H20	1706 g/mol	Poliéster	Primarios	16

^a Datos proporcionados por la compañía (www.polymerfactory.com) para los precursores HBP correspondientes.

^b Datos calculados a partir de la estructura ideal.

3.3.2.1. Síntesis de P1000-N₃



La síntesis se lleva a cabo en dos pasos.

a) Intermedio mesilado (P1000-Ms): En un matraz de 2 bocas de 100 mL, bajo atmósfera inerte, se disuelven 315 mg de P1000 (0.265 mmol, 1 equiv.) en 10 mL de piridina seca. El matraz se sumerge en un baño de hielo a T = 0°C. Seguidamente, se añaden lentamente 215 µL de cloruro de mesilo (2.78 mmol, 10.5 equiv.). El baño de hielo se retira y la reacción se deja con agitación a temperatura ambiente durante 72 horas.

La mezcla de reacción se disuelve en 100 mL de diclorometano y se realizan lavados con HCl acuoso al 20% (50 mL x 2), con una disolución saturada de NaHCO₃ (80 mL) y por último con una disolución saturada de NaCl (80 mL). La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y finalmente se evapora el disolvente en el rotavapor. Se obtiene un sólido de color crema (459 mg, Rto. = 67%).

b) En un matraz de 100 mL, provisto de refrigerante de reflujo, se disuelven 273 mg (0.158 mmol, 1 equiv.) de P1000-Ms en 20 mL de *N,N*-dimetilformamida. Se añaden 108 mg (1.66 mmol, 10.5 equiv.) de NaN₃. La mezcla de reacción se mantiene a T = 90 °C y con agitación durante 24 horas.

A la mezcla de reacción se le añade una disolución saturada de NaHCO₃ (40 mL). La mezcla de reacción se extrae con diclorometano (25 mL x 3). La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaCl (80 mL), se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y finalmente se evapora el disolvente en el rotavapor. Se obtiene un sólido de color crema (188 g, Rto. = 87%).

Análisis elemental calculado para C₆₂H₇₇N₂₃O₁₂: C, 55.72; H, 5.81; N, 24.11. Encontrado: C, 54.32; H, 5.75; N, 23.59.

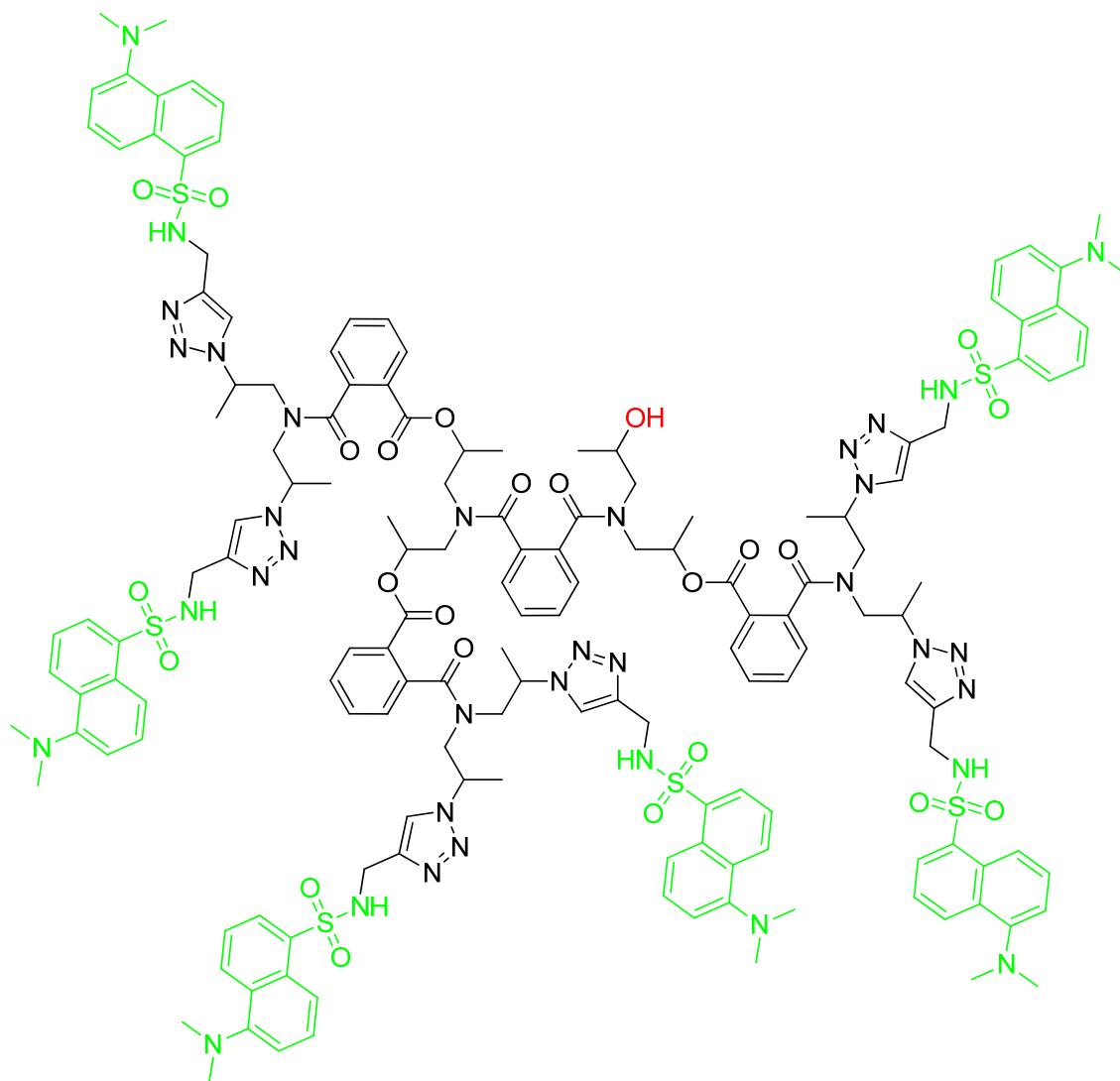
FTIR-ATR: 2.112 cm⁻¹ (-N₃), 1.717 cm⁻¹, 1.637 cm⁻¹ (C=O).

T_{descomposición}: 266 °C.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.2-7.2 (H_{arom}, 16H), 5.6-5.0 (-CH₂CHO-, 4H), 4.4-2.8 (-CH₂-, -CH₂CHN₃, 32H), 1.4-0.9 (-CH₃, 30H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 171.0 (NCOCH), 164.8 (OCOCH), 138.7-126.5 (C_{arom}), 70.5 (CH₃CHO), 57.5-50.0 (CH₂, CH₃CHN₃), 17.9 (CH₃CHOCH₂), 17.3 (CH₃CHN₃CH₂).

3.3.2.2. Síntesis de P1000-DANS



En un matraz de corazón de dos bocas de 50 mL se pesan 124 mg de P1000-N₃ (0.09 mmol), 210 mg de DANSino (0.73 mmol) y 29 mg de L(+)-ascorbato sódico (20%, 0.15 mmol). Se añaden 10 mL de agua milliQ y 10 mL de diclorometano. La mezcla se mantiene con agitación y en corriente de argón durante 30 min. Se añaden 19 mg de CuSO₄·5H₂O (10%, 0.07 mmol) y la mezcla de reacción se mantiene con agitación vigorosa a temperatura ambiente durante 24 horas. El curso de la reacción se sigue por cromatografía de capa fina (CHCl₃/MeOH 5:0.4 v/v) y por FTIR-ATR, hasta completa desaparición del pico de la azida a 2100 cm⁻¹.

Una vez completada la reacción, se añaden 20 mL de diclorometano y se lava con una disolución acuosa de NH_3 al 17.5% saturada de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA). La fase acuosa se extrae con diclorometano (15 mL x 3). Se juntan las fases orgánicas y se lavan con NaCl (20 mL), se secan sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtran y finalmente se evapora el disolvente en el rotavapor. El producto se purifica en columna de cromatografía con gel de sílice, utilizando como mezcla eluyente cloroformo/dietil éter (1:1 v/v). Cuando se observa la elución completa del DANSino de partida se cambia progresivamente la mezcla eluyente a cloroformo/isopropanol (5:2 v/v). Se obtiene un sólido de color amarillo (227 mg, Rto. = 70%).

Análisis elemental calculado para $\text{C}_{152}\text{H}_{173}\text{N}_{35}\text{O}_{24}\text{S}_6$: C, 59.53; H, 5.69; N, 15.99; S, 6.27. Encontrado: C, 54.23; H, 5.29; N, 15.30; S, 5.71.

T_{descomposición}: 351 °C.

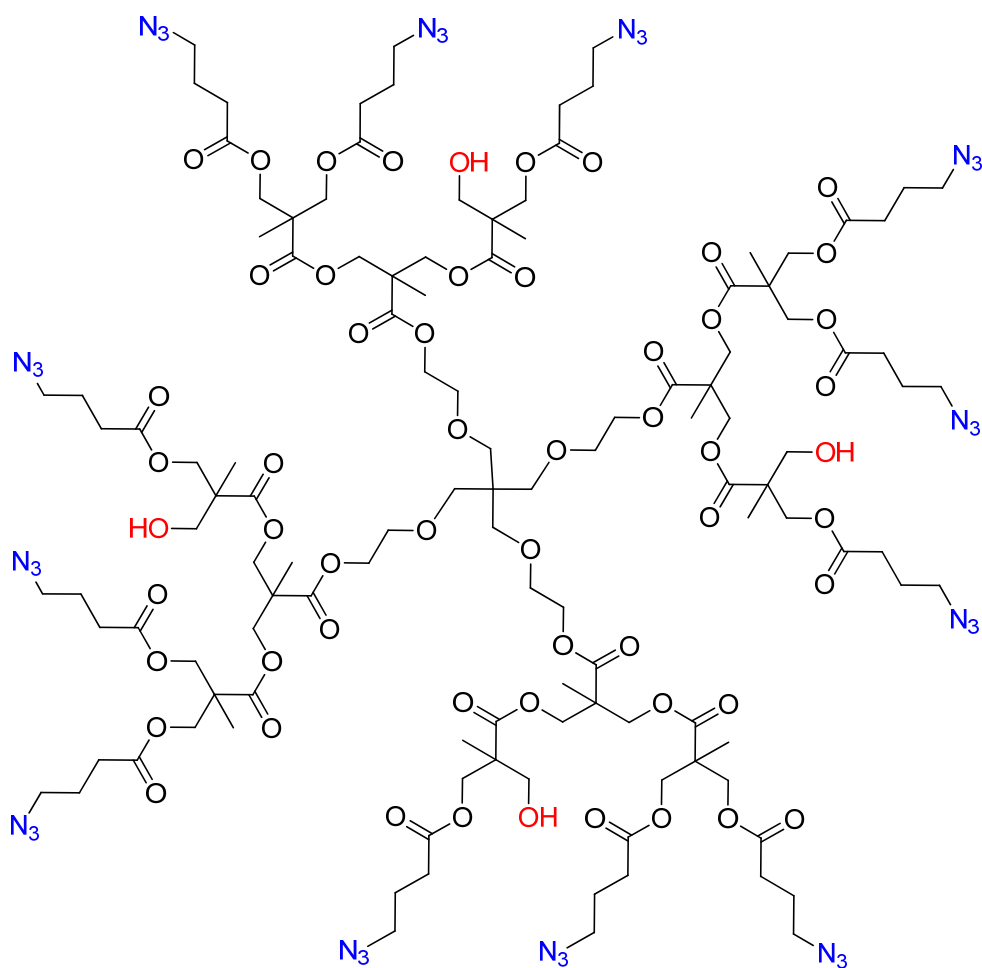
FTIR-ATR: 1.717 cm^{-1} , 1.637 cm^{-1} (C=O).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8.6-7.0 (m, H_{arom} y H-triazol), 5.5-3.8 (m, CH_2N , $\text{CH}_2\text{NH}\text{SO}_2$, CH-triazol, $-\text{CH}_2-$), 2.8 (br s, $-\text{CH}_3$, 36 H_{DANS}), 1.8-0.7 (m, $-\text{CH}_3$, 30 H_{P1000}).

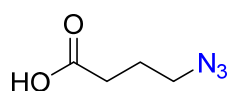
^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3) δ ppm: 171.0 (NCO), 164.8 (OCO), 152.0 (C_{arom}), 144.4 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}), 134.8 (C_{arom}), 133.3 (C_{arom}), 130.3 (C_{arom}), 129.7 (C_{arom}), 129.5 (C_{arom}), 128.3 (C_{arom}), 123.1 (C_{arom}), 118.9 (C_{arom}), 115.2 (C_{arom}), 55.4 (CH_2N), 53.4 (CH-triazol), 45.3 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 38.5 ($\text{CH}_2\text{NH}\text{SO}_2$), 18.0 ($-\text{CH}_3$ P1000).

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.2.3. Síntesis de H20-N₃



a) Síntesis de ácido 4-azidobutanoico:



Se sintetizó modificando ligeramente el procedimiento descrito en la literatura.^{12,13} En un matraz de 250 mL, provisto de refrigerante de reflujo, se pesan 7.995 g de NaN₃ (123 mmol, 1.5 equiv.) y 10 mL de 4-clorobutirato de

¹² Carboni, B.; Vaultier, M.; Carrié, R., Etude de la chimiosélectivité de la réaction des dichloroboranes avec les azides fonctionnels : une synthèse efficace d'amines secondaires fonctionnalisées. *Tetrahedron* **1987**, 43 (8), 1799-1810.

¹³ Yu, T.; Bai, J. Z.; Guan, Z., Cycloaddition-Promoted Self-Assembly of a Polymer into Well-Defined β Sheets and Hierarchical Nanofibrils. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, 121 (6), 1117-1121.

metilo (0.082 mol). Se añaden 140 mL de *N,N*-dimetilformamida y la mezcla de reacción se mantiene a $T = 110^{\circ}\text{C}$ con agitación durante 24 horas.

Una vez completada la reacción, se agregan 150 mL de agua destilada y se realizan extracciones con éter dietílico (100 mL x 3), se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y finalmente se evapora el disolvente en rotavapor obteniéndose un líquido de color amarillo. Se prepara una disolución de 12.6 g NaOH (315 mmol, 4 equiv.) en 150 mL MeOH/ H_2O (1:1, v/v) y se añade al producto. La mezcla se mantiene con agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Se añade HCl gota a gota hasta alcanzar $\text{pH} = 1$. La mezcla se extrae con AcOEt, se reúnen las fases orgánicas y se evapora el disolvente en el rotavapor. Se obtienen 6.82 g, (Rto. = 65%) como un líquido incoloro.

b) Funcionalización del polímero:¹⁴

En un matraz de tres bocas, provisto de un Dean-Stark, se introduce el polímero Boltorn H20 (2.025 g, 1.19 mmol, 1 equiv.), ácido 4-azidobutanoico (2.988 g, 23 mmol, 19.3 equiv.) y $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10% p/p), se añaden 80 mL de benceno y se mantiene a reflujo con agitación durante 48 h. El curso de la reacción se sigue por GPC.

A la mezcla de reacción se le añaden 100 mL de AcOEt y una disolución saturada de NaHCO_3 (100mL). La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaCl (2 x 80 mL), se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y finalmente se evapora el disolvente en el rotavapor. Se obtiene un aceite de color amarillo cobrizo (3.2 g, Rto. = 90%), identificado como el derivado azida deseado, H20-N_3 .

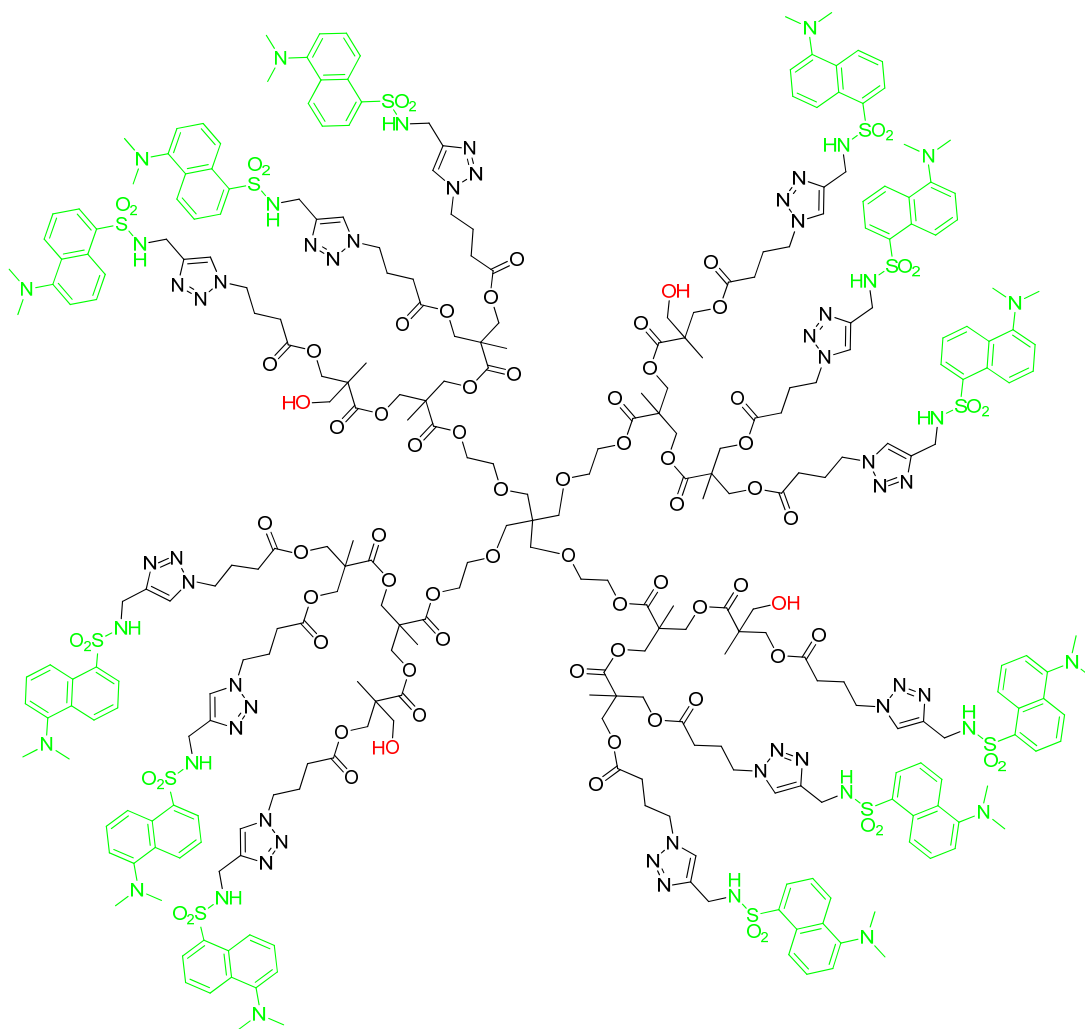
Análisis elemental calculado para $\text{C}_{121}\text{H}_{184}\text{N}_{36}\text{O}_{56}$: C, 47.82; H, 6.10; N, 16.59. Encontrado: C, 47.77; H, 6.80; N, 16.14.

¹⁴ Katritzky, A. R.; Song, Y.; Sakhula, R.; Gyanda, R.; Meher, N. K.; Wang, L.; Duran, R. S.; Ciaramitaro, D. A.; Bedford, C. D., Synthesis of Boltorn 1,2,3-triazole dendrimers by click chemistry. *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47 (15), 3748-3756.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 4.5-4.0 (m, $-\text{CH}_2-$, 48H), 3.8-3.5 (m, $-\text{CH}_2-$, 24H), 3.4 (t, $-\text{CH}_2-$, 28H), 2.4 (t, $-\text{CH}_2-$, 28H), 1.9 (m, $-\text{CH}_2-$, 28H), 1.2 (m, $-\text{CH}_3$, 36H).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 173.0-171.0, 71.0-62.0, 50.5, 50.4, 48.6, 46.5, 46.4, 31.0, 30.8, 24.2, 24.1, 17.7, 17.6.

3.3.2.4. Síntesis de H20-DANS



Seguendo el procedimiento descrito para la síntesis de P1000-DANS, se emplean 411 mg de H20-N_3 (0.135 mmol, 1 equiv.), 474 mg de DANSino (1.64 mmol, 1 equiv.), 65 mg de $\text{L}(+)\text{-ascorbato sódico}$ (20%, 0.33 mmol) y 41 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10%, 0.16 mmol). Se obtiene H20-DANS como un sólido de color amarillo (820 mg, Rto. = 93%).

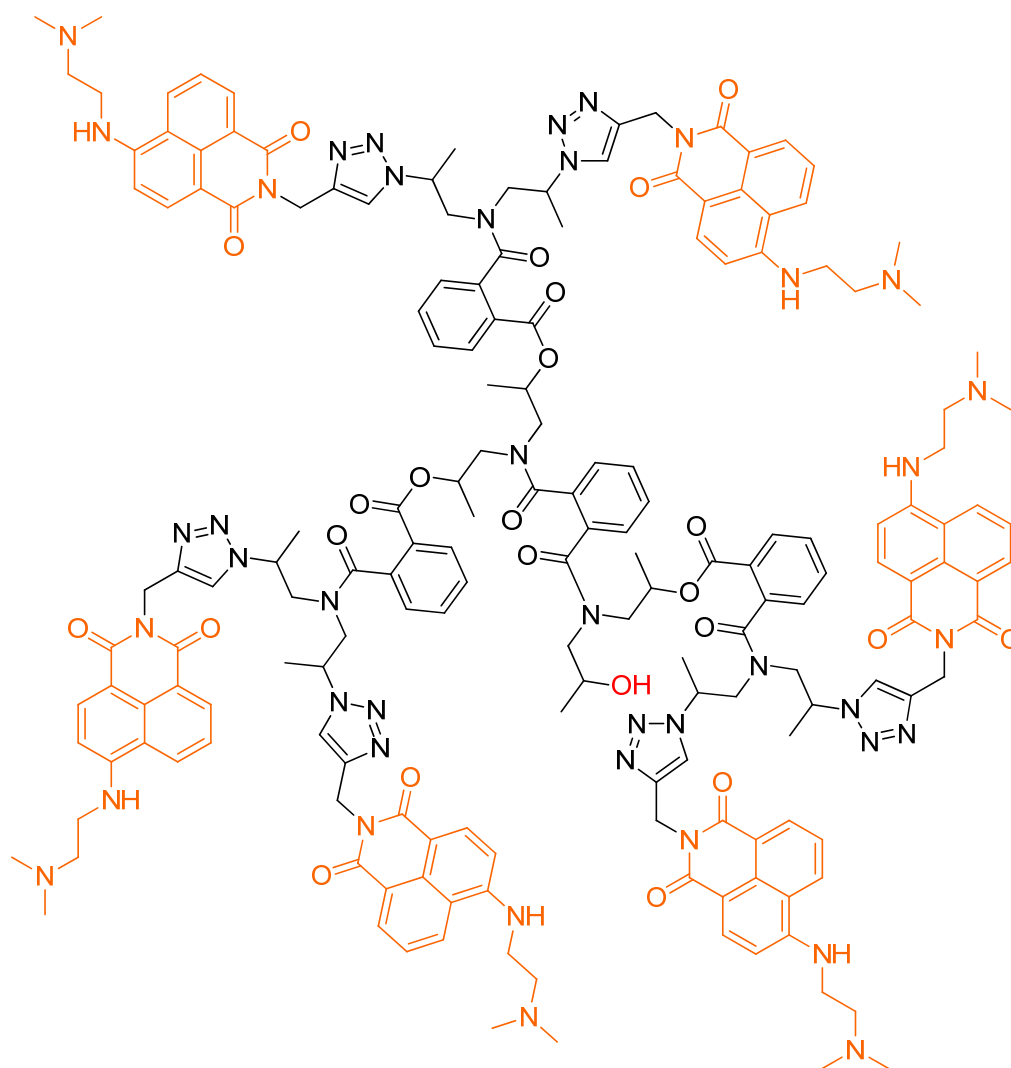
Análisis elemental calculado para $C_{301}H_{376}N_{60}O_{80}S_{12}$: C, 55.62; H, 5.83; N, 12.93; S, 5.92. Encontrado: C, 53.89; H, 6.28; N, 12.19; S, 6.20.

1H RMN (500 MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 8.48 (s, -CH, 12H), 8.26, 8.24, 8.19 (m, -CH, 24H), 7.40 (m, -CH, 36H), 7.10 (s, -CH, 12H), 4.18 (m, 86H), 3.65-3.25 (m, -CH₂-, 32H), 2.83 (s, -CH₃, 72H), 2.22 (m, -CH₂-, 26H), 2.00 (m, -CH₂-, 26H), 1.50-0.70 (m, -CH₃, 36H).

^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 172.2, 172.0, 161.0, 160.6, 151.6, 144.2, 134.9, 130.4, 129.7, 129.5, 128.4, 123.3, 122.8, 119.1, 115.4, 71.0-60.5, 53.6, 49.0, 46.6, 45.3, 41.7, 38.7, 30.5, 30.4, 29.7, 25.2, 25.1, 23.1, 17.9, 17.7.

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.2.5. Síntesis de P1000-NAFT

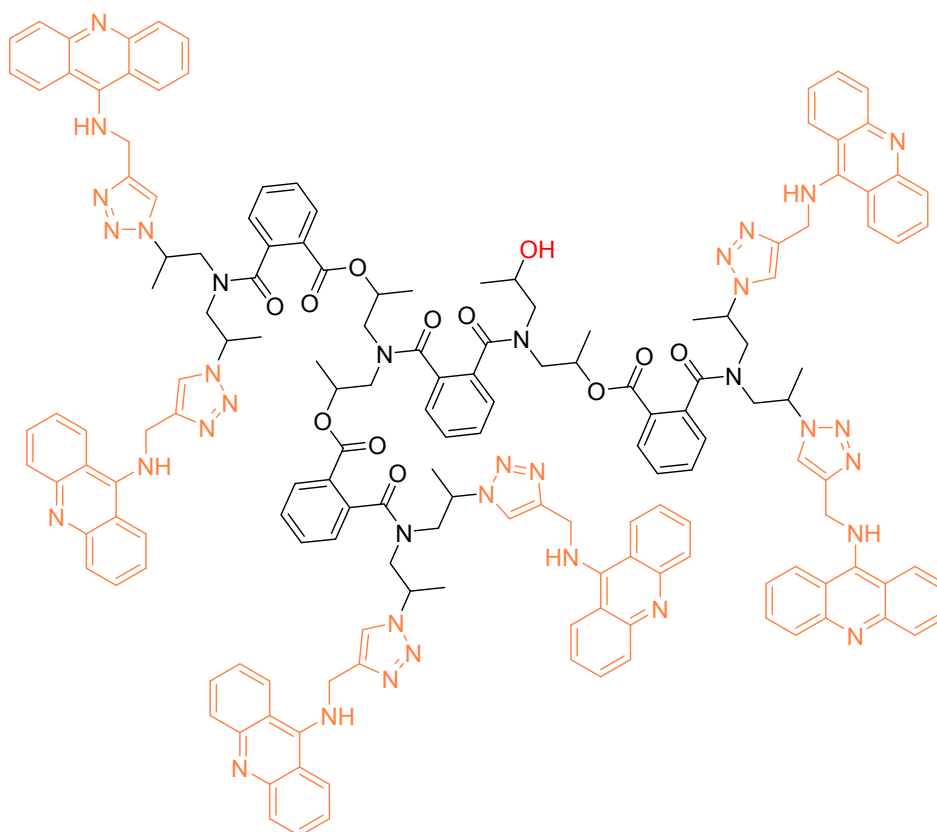


Seguendo el procedimiento descrito para la síntesis de P1000-DANS, se emplean 154 mg de P1000-N₃ (0.11 mmol, 1 equiv.), 218 mg de NAFTino (0.57 mmol, 6 equiv.), 27 mg de L(+)-ascorbato sódico (20%, 0.14 mmol) y 17 mg de CuSO₄·5H₂O (10%, 0.07 mmol). Se obtiene P1000-NAFT como un sólido de color naranja oscuro (353 mg, Rto. = 89%).

Análisis elemental calculado para C₁₇₆H₁₉₁N₄₁O₂₄: C, 64.75; H, 5.90; N, 17.59. Encontrado: C, 60.40; H, 5.69; N, 16.51.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.6-6.8 (m, 46H, H_{arom}), 6.7-6.1 (m, 7H, H-triazol) 5.8-4.5 (m, 20H, -CH₂-N=, -NH-CH₂-), 3.3 (br s, -CH₂-, 12H_{NAFT}), 2.7 (br s, -CH₂-, 12H_{NAFT}), 2.3 (br s, -CH₃, 36H_{NAFT}), 1.8-0.5 (m, -CH₃, 30H_{P1000}).

3.3.2.6. Síntesis de P1000-ACRID



Siguiendo el procedimiento descrito para la síntesis de P1000-DANS, se emplean 150 mg de P1000-N₃ (0.11 mmol), 154 mg de ACRIDino (0.66 mmol), 29 mg de L(+)-ascorbato sódico (20%, 0.15 mmol) y 19 mg de CuSO₄·5H₂O (10%, 0.07 mmol). Se obtiene P1000-ACRID como un sólido de color naranja (270 mg, Rto. = 90%).

Análisis elemental calculado para C₁₅₈H₁₄₉N₃₅O₁₂: C, 69.51; H, 5.50; N, 17.96. Encontrado: C, 64.14; H, 4.89; N, 16.29.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.9-6.8 (m, 60H_{arom}), 5.3-4.5 (m, 12H, -CH₂NH-, CH₂-triazol), 4.7-2.4 (m, -CH₂NH-, -CH₂-), 1.7-0.5 (m, -CH₃, 30H_{P1000}).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 171.7 (NCO), 164.8 (OCO), 151.3, 149.2, 145.7, 137.5, 133.1, 130.0, 129.7, 129.3, 128.8, 127.0, 123.3, 117.6, 56.5 (CH₂N), 54.8 (CH-triazol), 46.2 (NCH₂), 18.5 (CH₃ P1000).

La asignación de las señales se realizó con ayuda del experimento HSQC.

3.3.3. Preparación de filmes epoxi funcionalizados.

i) Fotopolimerización de resina epoxi.

Las formulaciones de EEC, EBH e Irgacure 250 se fotopolimerizaron tal y como se ha explicado previamente, obteniéndose filmes de 250 μm de espesor. Se prepararon dos formulaciones diferentes, con 20% (EEC/EBH 80:20) y 30% en peso (EEC/EBH 70:30) de epibromohidrina. Ambas formulaciones contenían un 2% en peso de fotoiniciador.

ii) Preparación filmes azida.

Los filmes de la formulación EEC/EBH 70:30 (2 g, aprox. 4.4 mmol de Br, 1 equiv.) se sumergieron en una disolución acuosa saturada de azida sódica (3 g/20 mL, 0.046 mol, 10.5 equiv.) y se mantuvieron con agitación durante 48 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se lavaron con agua destilada varias veces para eliminar los restos de azida sódica sin reaccionar. Los filmes de la formulación EEC/EBH 80:20 se sometieron a las mismas condiciones de reacción, por lo que en este caso el exceso estequiométrico de azida sódica fue mayor.

iii) Funcionalización de los filmes.

En un matraz de dos bocas de 50 mL se pesó el cromóforo (DANSino: 40 mg, 0.14 mmol, 1.5 equiv o NAFTino: 45 mg, 0.14 mmol, 1.5 equiv.), 6 mg de L(+)-ascorbato sódico (20%, 0.03 mmol), se introdujo una tira del filme azida de 2x1 cm^2 (aprox. 0.080-0.095 mmol N_3 , 1 equiv.) y se añadieron 22 mL de mezcla agua/etanol (10:1 v/v) bajo atmósfera inerte. La mezcla se mantuvo con agitación y en corriente de argón durante 15 min, se añadieron 4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10%, 0.015 mmol) y se mantuvo con agitación vigorosa a temperatura ambiente durante 5 días. Una vez completada la reacción, se sacó el filme del recipiente, se lavó con agua destilada, se mantuvo una noche sumergido en agua y finalmente se lavó alternando con etanol y agua destilada hasta extraer completamente el cromóforo que hubiera podido quedar sin reaccionar.

3.3.4. Preparación de filmes dopados.

A) Filmes epoxi.

Además de los filmes epoxi funcionalizados, se prepararon de forma paralela filmes dopados con las sondas fluorescentes DANSino y NAFTino (3% p/p), que se añadieron a la formulación epoxi EEC/EBH (80:30 y 70:30) antes de llevar a cabo el proceso de fotopolimerización. Estos filmes permitirían compararlos en función de si las sondas habían sido incorporadas a los mismos por adición en el proceso de polimerización o injertando la molécula químicamente en la matriz polimérica.

Por otro lado, se prepararon formulaciones HEDGE/Glicidol 3:2 con un 2% en peso de iniciador triarilsulfonio hexafluoroantimoniato, y 20 mg de tetrakis(4-clorofenil) borato de potasio (2% p/p) y el cromóforo correspondiente en la cantidad adecuada para obtener una concentración del orden de 10^{-5} M en cromóforo, agitando hasta su completa disolución. La formulación se deposita entre dos filmes de PP separados por un marco espaciador de dimensiones 3.5x1.4x0.1 mm, y se irradia en un equipo BioLink a 313 nm durante 40 min. Una vez fotopolimerizado se retira el marco y el filme de PP, quedando libre el filme epoxídico resultante.

B) Filmes de PE.

El dopado de los filmes de PE se realizó por inmersión de dichos filmes (de dimensiones 1.3 x 3 cm²) en disoluciones de las sondas en éter etílico o THF, en función de su solubilidad, de concentración 10^{-3} M durante 12 horas con agitación mecánica a 180 rpm. El PE es insoluble en éter etílico y THF, pero estos disolventes hinchon ligeramente las capas superficiales del polímero de manera que la sonda puede difundir hacia el interior. Posteriormente, los filmes se lavaron con éter hasta asegurar la completa eliminación de sonda en la superficie y finalmente, se secaron a vacío.

C) Filmes de PVC.

Se disuelven 410 mg de PVC (38% p/p), 460 mg de DOP (62% p/p) y 20 mg de tetrakis(4-clorofenil) borato de potasio (2% p/p) en 17 mL de THF, y se añade la cantidad adecuada de cromóforo para obtener una concentración del orden de 10^{-5} M en cromóforo. Se depositan 0.5 mL de esta disolución sobre un filme de PET y se deja evaporar lentamente el disolvente durante 24 h. A continuación se somete a vacío durante 2 h. El filme resultante, soportado sobre PET tienen un espesor de 40 μ m, y se corta en especímenes de 3.5x1.4 mm.

D) Filmes acrílicos.

Se preparan 3 tipos de filmes de diferente composición:

Se disuelven tetrakis(4-clorofenil) borato de potasio (20 mg, 2% p/p) e Irgacure 819 (10 mg, 1% p/p) en una mezcla de 0.2 g de HDDMA y 0.8 g de BuA, agitando hasta su completa disolución, y se añade el cromóforo correspondiente en la cantidad adecuada para obtener una concentración del orden de 10^{-5} M en cromóforo. La formulación se deposita entre dos filmes (PET y PP, respectivamente) separados por un marco espaciador de dimensiones 3.5x1.4x0.1 mm, y se irradia en un equipo BioLink a 365 nm durante 9 min. Una vez fotopolimerizado se retira el marco y el filme de PP y el filme acrílico resultante queda adherido sobre el soporte de PET.

En 1 g de mezcla HDDMA/HEMA 1:1 se añade Irgacure 819 (10 mg, 1% p/p) el cromóforo correspondiente en la cantidad adecuada para obtener una concentración del orden de 10^{-5} M en cromóforo, agitando hasta su completa disolución. La formulación se deposita entre dos filmes de PP separados por un marco espaciador de dimensiones 3.5x1.4x0.1 mm, y se irradia en un equipo BioLink a 365 nm durante 9 min. Una vez fotopolimerizado se retira el marco y el filme de PP, quedando libre el filme acrílico resultante.

3.3.5. Funcionalización de nanopartículas de sílice.

La funcionalización de nanopartículas de sílice se realizó en 3 pasos, siguiendo un método similar al descrito en la bibliografía:¹⁵

i) Modificación de partículas de sílice con grupos bromuro (Br-SiO_2).

En un matraz de 50 mL se dispersan las partículas (150 mg) en 15 mL de una disolución agua/etanol (1:10 v/v), se añaden 3 mL de ácido acético y 0.5 mL de 3-bromopropiltrimetoxisilano. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 h. Las partículas se centrifugan, decantan, lavan con agua y ultrasonican. Después, las partículas se centrifugan y se decantan, se lavan con etanol y se ultrasonican. Estos tratamientos de lavado se repiten dos veces alternando los disolventes. Las partículas se decantan y secan a vacío.

ii) Azidación de las partículas de sílice funcionalizadas ($\text{N}_3\text{-SiO}_2$).

Las partículas bromadas se dispersan en una disolución acuosa de azida sódica (2 g en 20 mL). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 48 h. Las partículas se centrifugan y se decantan, tras lo que se lavan con agua y se ultrasonican. Este tratamiento de lavado se repite dos veces para eliminar los restos de azida sódica sin reaccionar. Las partículas se decantan y secan a vacío.

iii) Injerto de las sondas en las partículas de sílice funcionalizadas (CROM-SiO_2).

En un matraz de corazón de dos bocas de 25 mL se pesan 6 mg de partículas $\text{N}_3\text{-SiO}_2$ (1 equiv., 0.067 mmol), el cromóforo DAnSino o NAFTino (1.5 equiv, 0.1 mmol) y 3 mg de L(+)-ascorbato sódico (20%, 0.02 mmol). Se añaden 5 mL de agua milliQ y 5 mL de $^t\text{BuOH}$. La mezcla se mantiene con agitación y en corriente de argón durante 30 min. Se añaden 2 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10%,

¹⁵ Chandran, S. P.; Hotha, S.; Prasad, B. L. V., Tunable surface modification of silica nanoparticles through “click” chemistry. *Current Science* **2008**, 95 (9), 1327–1333.

0.01 mmol) y la mezcla de reacción se mantiene con agitación vigorosa a temperatura ambiente durante 48 horas.

Una vez completada la reacción, las partículas se decantan, se lavan con una disolución acuosa de NH_3 al 17.5% saturada de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) y se ultrasonican. Este proceso se repite dos veces con agua y dos veces con etanol para eliminar los restos de cobre y cromóforo sin reaccionar. Finalmente, las partículas se decantan y se secan a vacío.

3.3.6. Síntesis de nanogeles.

En un matraz de 100 mL, provisto de refrigerante de reflujo, se añaden 2 g de dimetacrilato de uretano (UDMA) y 3.8 g de metacrilato de isobornilo (IBMA), en proporción molar 20:80, 24 mL de acetato de etilo (4 veces la masa total de monómero) y 0.13 g de 2-mercaptoetanol (10% molar con respecto al monómero IBMA) como agente de transferencia de cadena, que se incluye en la mezcla para evitar la macrogelación y para controlar el peso molecular del nanogel. La mezcla se mantiene con agitación y en corriente de argón durante 30 min. Se añaden 28 mg de azobisisobutironitrilo (AIBN, 1% molar con respecto al monómero IBMA) como iniciador térmico. La mezcla de reacción se mantiene en atmósfera de argón a $T = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con agitación durante 3 horas.

La disolución se precipitó gota a gota sobre 400 mL de metanol. El polímero precipitado se aisló por decantación y el disolvente residual se eliminó utilizando alto vacío, obteniendo 2.71 g (rendimiento = 72%) del nanogel (Ng).

CAPÍTULO 4

SÍNTESIS Y ESTUDIO FOTOFÍSICO DE LAS SONDAS FLUORESCENTES EN DISOLUCIÓN

4. SÍNTESIS Y ESTUDIO FOTOFÍSICO DE LAS SONDAS FLUORESCENTES EN DISOLUCIÓN.

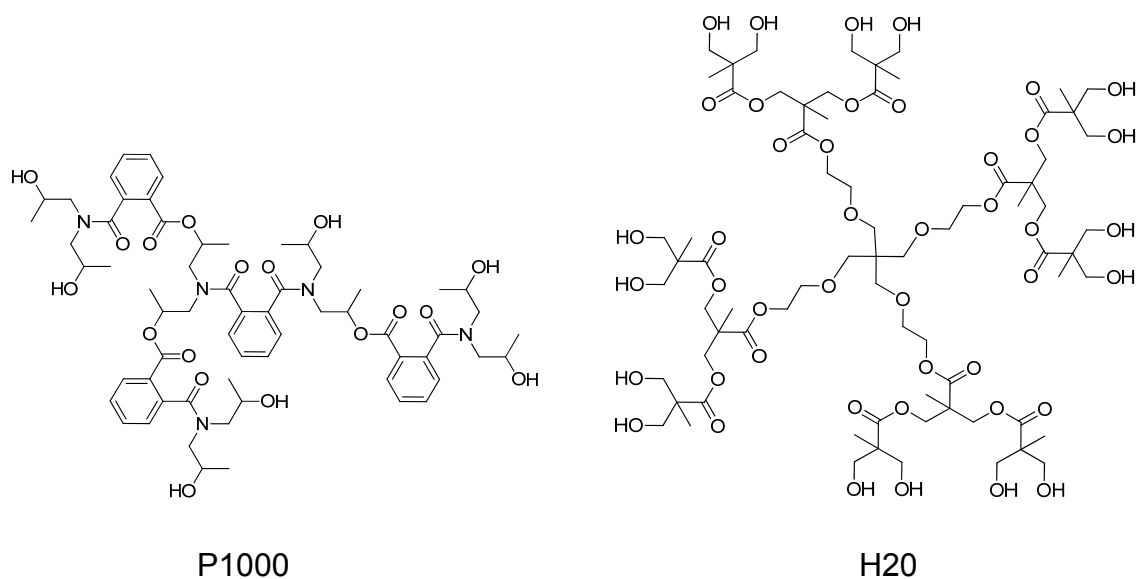
4.1. INTRODUCCIÓN.

En este Trabajo se han sintetizado una serie de sondas y polímeros fluorescentes que se pueden clasificar en tres grupos: (i) derivados de dansilo, (ii) derivados de naftalimida y (iii) derivados de acridina.

Para la introducción de los cromóforos en estructuras poliméricas de naturaleza dendrítica se ha utilizado la cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen de azidas y alquinos, usando un catalizador de cobre a temperatura ambiente.

Los polímeros hiperramificados se han funcionalizado con grupos azida para introducir un átomo de nitrógeno en el grupo reactivo, de manera que la unión entre la sonda fluorescente y el esqueleto polimérico sea un enlace N-C, el cual preserva las propiedades fotofísicas de los cromóforos derivados de dansilo, naftalimida y acridina. Los cromóforos se funcionalizaron con un grupo acetilénico.

Los polímeros hiperramificados de partida utilizados, P1000 y H20, se eligieron debido a tres características: su bajo peso molecular (que permite una relativamente alta solubilidad en numerosos disolventes y monómeros), su diferente estructura química (alifática-poliéster o aromática poliéster-amida, y grupos -OH primarios o secundarios) y su diferente número de grupos reactivos. El estudio de las características como sensores de estas diferentes estructuras permitirá determinar las mejores aplicaciones para cada compuesto. Las estructuras se muestran en el Esquema 4.1.



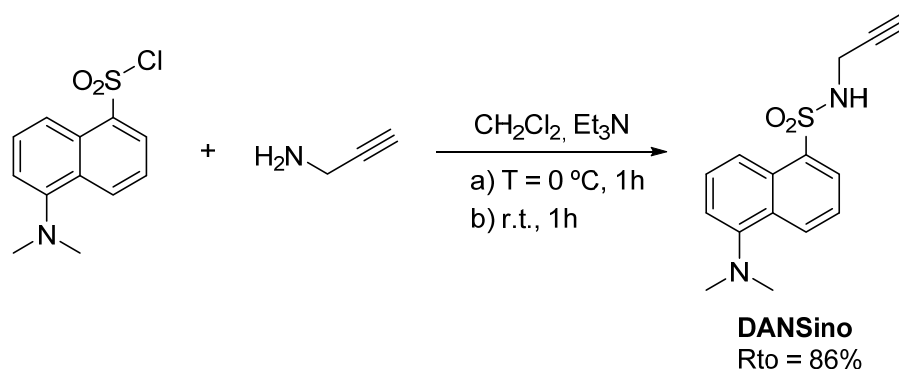
Esquema 4.1. Estructuras de los HBP comerciales.

En este Capítulo se discuten los datos más relevantes de las síntesis llevadas a cabo y se estudian las propiedades fotofísicas en disolución de todos los cromóforos y polímeros fluorescentes sintetizados, abordando el estudio de las propiedades de absorción UV y emisión de fluorescencia de las diferentes familias, en una amplia gama de disolventes de diferente polaridad.

4.2. FUNCIONALIZACIÓN DE CROMÓFOROS.

4.2.1. Síntesis de DANSino.

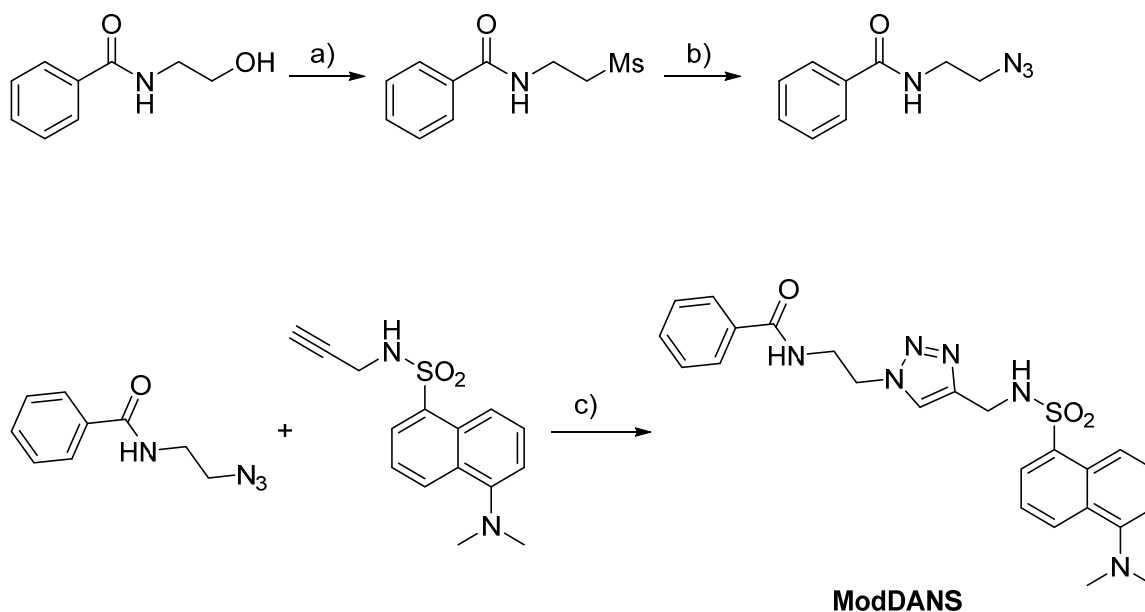
La funcionalización y purificación del cromóforo dansilo con el grupo acetilénico se hizo fácilmente a partir de cloruro de dansilo y propargilamina en condiciones suaves, como se describe en la Parte Experimental. El cromóforo DANSino se aisló con un rendimiento del 86% (Esquema 4.2).



Esquema 4.2. Síntesis del cromóforo DANSino.

4.2.2. Síntesis de ModDANS.

Para la síntesis del derivado dansilo que se ha utilizado como modelo de la estructura P1000, se sintetizó en un primer paso la *N*-(2-azidoetil)benzamida, sobre la cual se realizó después la reacción click en presencia del cromóforo DANSino (Esquema 4.3).

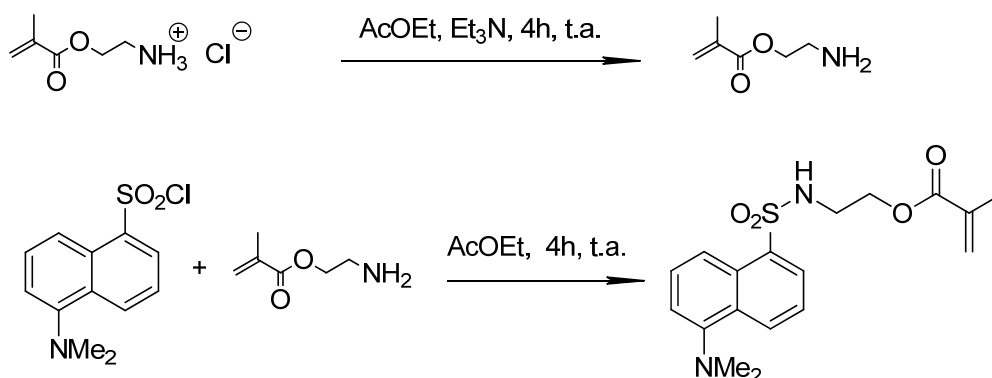


Esquema 4.3. Síntesis del cromóforo ModDANS. (a) TsCl, py, t.a., 24h; (b) NaN₃, DMF, 90°C, 18h; (c) DANSino, CuSO₄, (+) Na L-ascorbato, CH₂Cl₂/H₂O (1:1 v/v), Ar, t.a., 3h.

Este compuesto de bajo peso molecular permite analizar el efecto del anillo triazol y del resto benzamida sobre la fotoquímica del grupo dansilo, y se ha empleado como compuesto de referencia en el estudio de fotofísico del polímero P1000-DANS.

4.2.3. Síntesis de DANSMA.

La funcionalización del cloruro de dansilo con el grupo metacrilato se realizó fácilmente tras la liberación *in situ* del clorhidrato de 2-aminoetil metacrilato, en condiciones suaves, como se describe en la Parte Experimental, y el cromóforo DANSMA se aisló con un rendimiento del 75% (Esquema 4.4).



Esquema 4.4. Síntesis del cromóforo DANSMA.

4.2.4. Síntesis de NAFTino.

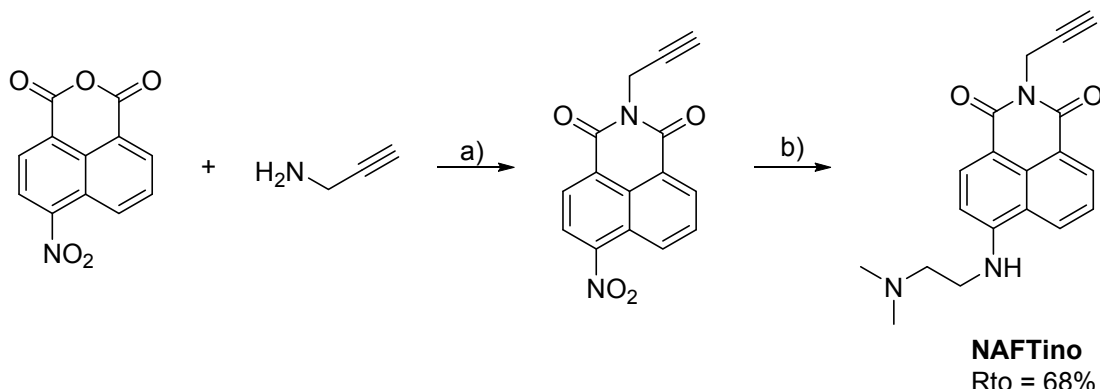
La síntesis del cromóforo NAFTino se realizó en dos pasos (Esquema 4.5).

La imidación del anhídrido 4-nitro-1,8-naftálico es una reacción de sustitución nucleófila donde la propargilamina actúa como grupo atacante, en medio alcohólico y bajo condiciones de reflujo, con un rendimiento del 90%. En estas condiciones, el grupo nitro no reacciona. En un segundo paso, el derivado de naftalimida se hace reaccionar con *N,N*-dimetiletilendiamina en un disolvente polar aprótico como DMF. La sustitución nucleófila está favorecida por los carbonilos del anillo de naftalimida, que actúan como electroaceptores, produciéndose la sustitución en la posición 4 del anillo naftálico.¹

En este trabajo se ha utilizado por primera vez la irradiación microondas como fuente de energía para ambos pasos de síntesis, acortándose

¹ Grabchev, I.; Moneva, I.; Bojinov, V.; Guittonneau, S., Synthesis and properties of fluorescent 1,8-naphthalimide dyes for application in liquid crystal displays. *Journal of Materials Chemistry* **2000**, *10*, 1291-1296.

considerablemente los tiempos de reacción, y obteniéndose buenos rendimientos en las dos reacciones.



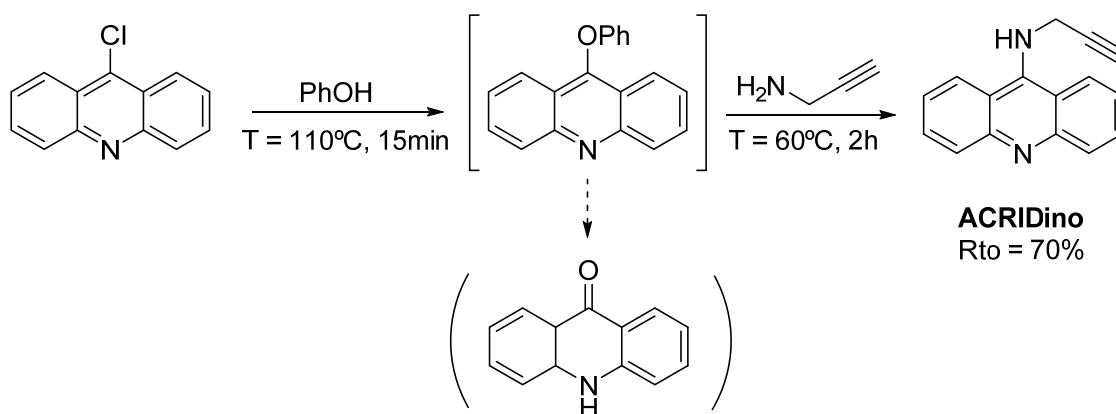
Esquema 4.5. Síntesis del cromóforo NAFTino. (a) Et₃N, 1,4-dioxano, 90°C, 30min, MW; (b) *N,N*-dimetiletilendiamina, DMF/2-metoxietanol 1:1, 120°C, 15min, MW.

La reacción entre el anhídrido 4-nitro-1,8-naftálico y la propargilamina se completó en tan sólo 30 minutos, empleando dioxano como disolvente y con rendimiento prácticamente cuantitativo (90% en producto aislado). Además del corto tiempo de reacción, esta metodología permite emplear 1,4-dioxano como disolvente en lugar de DMF, de punto de ebullición mucho más alto.

La segunda etapa de la síntesis, la sustitución del grupo nitro en posición 4, también se realizó mediante irradiación microondas, y el cromóforo NAFTino se aisló con un rendimiento del 68% tras 15 minutos de reacción.

4.2.5. Síntesis de ACRIDino.

Para la síntesis del cromóforo ACRIDino (Esquema 4.6) se emplean como reactivos de partida 9-cloroacridina y propargilamina, en presencia de fenol, que actúa simultáneamente como reactivo y disolvente.



Esquema 4.6. Síntesis del cromóforo ACRIDino.

Esta reacción requiere algunas consideraciones, pues la reacción directa de 9-cloroacridinas con aminas no conduce a la formación del producto deseado, o éste se consigue con muy bajo rendimiento. Es necesario un paso de activación en el que se forma un intermedio fenoxiacridina mediante sustitución nucleófila por ataque del fenol al anillo, por lo que inicialmente se sube la temperatura por encima del punto de fusión del fenol durante 15 minutos. Posteriormente, se baja la temperatura y se añade la propargilamina a 60°C para evitar la evaporación de ésta (punto de ebullición: T = 83°C).

Además, es necesario realizar la reacción bajo atmósfera inerte para evitar la hidrólisis del intermedio fenolato y la consiguiente formación de acridona.

El cromóforo ACRIDino se aisló con un rendimiento del 70%.

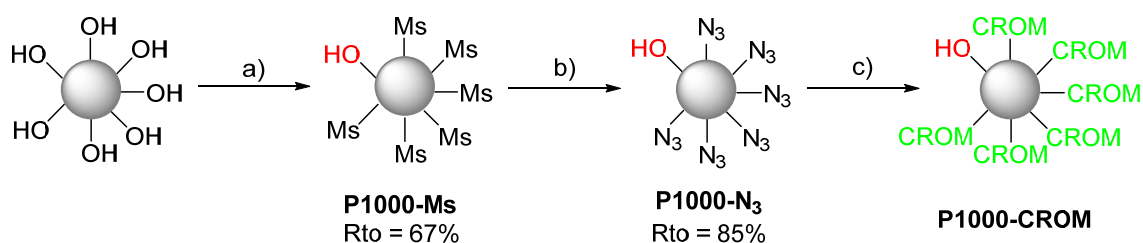
Los análisis de RMN, masas, microanálisis y UV-Vis permitieron la identificación y caracterización de todos los cromóforos funcionalizados descritos.

4.3. FUNCIONALIZACIÓN DE POLÍMEROS HIPERRAMIFICADOS.

4.3.1. Funcionalización de P1000.

La estrategia ha consistido en la transformación de los grupos hidroxilo de partida en grupos azida, a través del intermedio mesilado. Se ha elegido el cloruro de mesilo como agente activante del alcohol en vez de el cloruro de tosilo por ser menos voluminoso, y por tanto, más adecuado para la sustitución S_N2 de los hidroxilos secundarios del P1000. La posterior reacción click con los cromóforos modificados con triples enlaces unirá el cromóforo a la estructura polimérica a través de un enlace C-N, como ya se ha indicado.

La síntesis de P1000- N_3 se llevó a cabo en dos pasos (Esquema 4.7). Primero, se transformaron fácilmente los grupos hidroxilo del P1000 de partida en condiciones suaves, obteniéndose el correspondiente derivado mesilado con un buen rendimiento (67%). A continuación, se obtuvo el polímero azida P1000- N_3 , con un rendimiento del 85%, tras 24h de reacción con azida sódica a 90°C en DMF.



Esquema 4.7. Ruta sintética de los derivados funcionalizados P1000-CROM. (a) MsCl, py, t.a., 72h; (b) NaN₃, DMF, 90°C, 24h; (c) DANSino/NAFTino/ACRIDino, CuSO₄, (+) Na L-ascorbato, CH₂Cl₂/H₂O (1:1 v/v), Ar, t.a., 24h.

La reacción click entre P1000- N_3 y el cromóforo elegido en cada caso (DANSino, NAFTino y ACRIDino) se siguió por TLC. La completa desaparición del cromóforo de partida, así como la aparición de una nueva mancha fluorescente en la placa de TLC se consiguió después de 24 horas de reacción.

La ausencia completa de restos de cobre del catalizador se aseguró, en todas las reacciones click realizadas en este Trabajo, mediante extracciones sucesivas de la fase orgánica con EDTA. Este tratamiento es imprescindible, ya

que las trazas de cationes metálicos destruyen las propiedades fotoquímicas de estos cromóforos. Los polímeros fluorescentes P1000-DANS, P1000-NAFT Y P1000-ACRID se aislaron con un rendimiento del 70%, 89% y 90%, respectivamente.

El grado de funcionalización de los P1000-CROM se calculó a partir de los datos proporcionados por los espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, análisis elemental y UV-Vis, obteniéndose un valor medio de 6 unidades de cromóforo por molécula para todos los cromóforos empleados, por lo que en ningún caso se consiguió la funcionalización completa del polímero de partida.

Por otra parte, la ausencia completa de grupos azida en los polímeros P1000-CROM se confirmó mediante espectroscopia FTIR-ATR por la desaparición total del pico a 2100 cm^{-1} , correspondiente a la tensión asimétrica del enlace azida, como se muestra a modo de ejemplo en la Figura 4.1, para el caso del P1000-DANS.

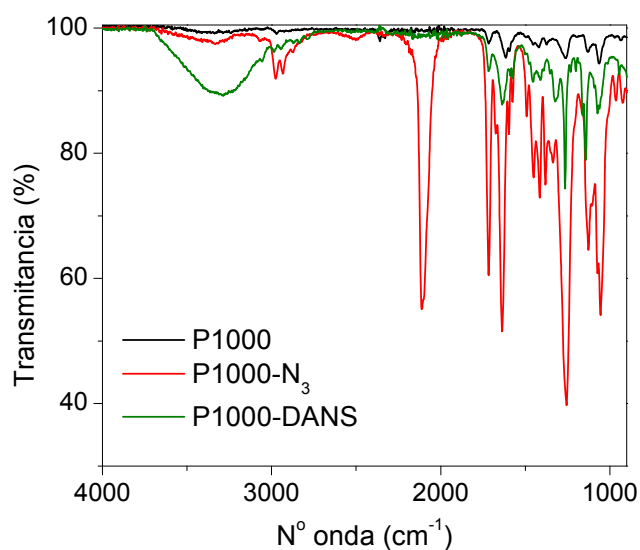


Figura 4.1. Espectros FTIR-ATR de los polímeros hiperramificados P1000, P1000-N₃ y P1000-DANS.

Teniendo en cuenta la estructura ideal del P1000, es una suposición factible que el grupo hidroxilo interno no pueda reaccionar fácilmente con el cloruro de mesilo bajo las condiciones suaves empleadas, ya que los datos de caracterización de los intermedios y del compuesto final indican que esta

funcionalización incompleta de los grupos hidroxilo de partida se produce en la primera etapa de la ruta sintética.

En la Figura 4.2 se muestran los cromatogramas de GPC para el P1000 de partida y los polímeros obtenidos en los dos pasos de síntesis.

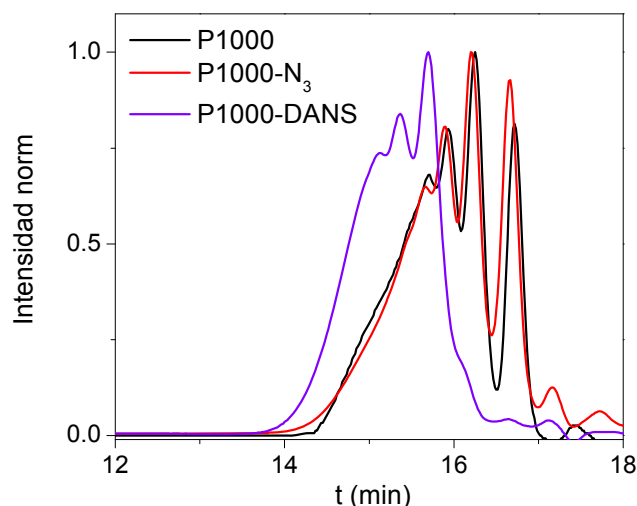


Figura 4.2. Cromatogramas de GPC para el polímero hiperramificado P1000 y sus derivados.

Además del aumento progresivo en el peso molecular con las etapas de funcionalización de los polímeros hiperramificados P1000, P1000-N₃ y P1000-DANS, se observa que la distribución de pesos moleculares es casi idéntica entre el material de partida y los productos de cada etapa de funcionalización. Por tanto, esta ruta sintética permite obtener la funcionalización homogénea de los grupos reactivos del esqueleto hiperramificado de partida.

Dado que el calibrado del equipo está realizado con patrones de PMMA lineal, estos cromatogramas no permiten la determinación del peso molecular de los polímeros sintetizados pero sí aportan información sobre las distribuciones de la funcionalización en los polímeros en las diferentes etapas de síntesis.

Mediante TGA se analizó la pérdida de peso en función de la temperatura en el intervalo de 25-800°C bajo flujo de nitrógeno.

Las curvas del análisis termogravimétrico se muestran en la Figura 4.3, tomando como ejemplo los derivados en la síntesis del P1000-DANS.

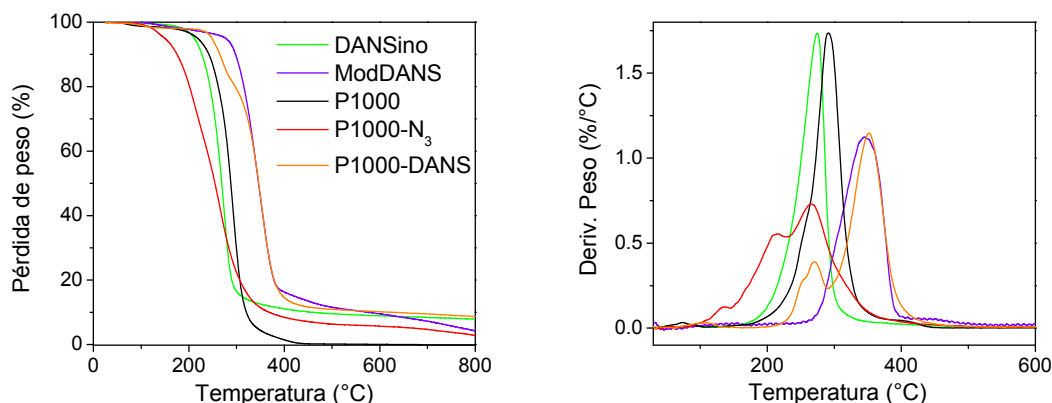


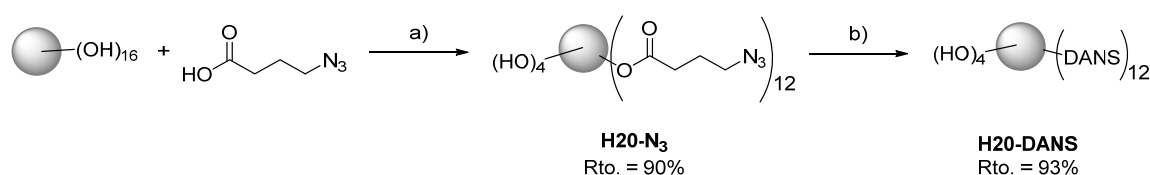
Figura 4.3. Termogramas de los cromóforos derivados de dansilo y los polímeros derivados de P1000.

Los cromóforos DANSino y ModDANS muestran una degradación en una única etapa, a 275°C para el DANSino y a 345°C para el modelo, que muestra mayor estabilidad térmica debido a la presencia del anillo triazol en su estructura. En el polímero de partida P1000 se observa una degradación en una única etapa con temperatura de descomposición a 290°C, mientras que en los intermedios funcionalizados las curvas de pérdida de peso muestran dos etapas de descomposición. P1000-N₃ muestra las $T_{\text{máx}}$ a 215°C y 265°C, mientras que el producto final P1000-DANS muestra una mayor estabilidad térmica, con $T_{\text{máx}}$ a 270°C, asociada al esqueleto polimérico, y a 352°C, asociada a los cromóforos y anillos triazol. De estos termogramas se puede obtener también el porcentaje de residuo al final de la degradación, siendo del 7.9% para DANSino, 4.5% para ModDANS, nulo para P1000, 2.8% para P1000-N₃ y 8.7% para P1000-DANS.

De manera análoga se analizaron los derivados de naftalimida y acridina. El termograma del cromóforo NAFTino muestra una degradación en una única etapa, a 370°C, y el de ACRIDino, a 255°C. Los termogramas de P1000-NAFT muestran dos etapas de descomposición, a 270°C y a 385°C, correspondientes al esqueleto polimérico y a los grupos cromofóricos con los anillos triazol, respectivamente. En este caso, NAFTino genera un residuo al final de la degradación del 22% y P1000-NAFT del 36%, mientras que los de ACRIDino y P1000-ACRID son de 6 y 18%, respectivamente.

4.3.2. Funcionalización de H20.

La síntesis del derivado fluorescente H20-DANS requirió una estrategia diferente (Esquema 4.8). En trabajos previos se ha descrito que el compuesto de partida H20 no puede funcionalizarse con mesilatos fácilmente.² Es por ello que el derivado azida H20-N₃ se sintetiza, tal y como se describe en la Parte Experimental, siguiendo un método alternativo con ligeras variaciones al descrito.



Esquema 4.8. Ruta sintética del HBP H20-DANS. (a) TsOH (cat.), benceno, 48h; (b) DANSino, CuSO₄, (+) Na L-ascorbato, CH₂Cl₂/H₂O (1:1 v/v), Ar, t.a., 24h.

El espectro de ¹H-RMN y el análisis elemental de H20-N₃ confirmaron una funcionalización incompleta de los grupos hidroxilo del polímero de partida H20, indicando un promedio de 12 grupos azida por molécula.

La siguiente reacción click se produjo fácilmente, en las mismas condiciones que las empleadas para P100DANS, con un buen rendimiento (93%). La reacción se siguió por espectroscopia FTIR-ATR y la ausencia completa de los grupos azida se confirmó por la ausencia del pico a 2100 cm⁻¹. Por lo tanto, se asumió que H20-DANS contenía un valor medio de 12 unidades dansilo por molécula.

El rendimiento total para los tres pasos de síntesis del polímero hiperramificado H20-DANS fue del 84%.

Asimismo, los cromatogramas de las dos etapas de funcionalización a partir del polímero hiperramificado H20, tal y como se muestra en la Figura 4.4, indican

² Katritzky, A. R.; Song, Y.; Sakhula, R.; Gyanda, R.; Meher, N. K.; Wang, L.; Duran, R. S.; Ciaramitaro, D. A.; Bedford, C. D., Synthesis of Boltorn 1,2,3-triazole dendrimers by click chemistry. *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47 (15), 3748-3756.

un aumento progresivo en el peso molecular de los materiales y un patrón similar en las distribuciones del peso molecular.

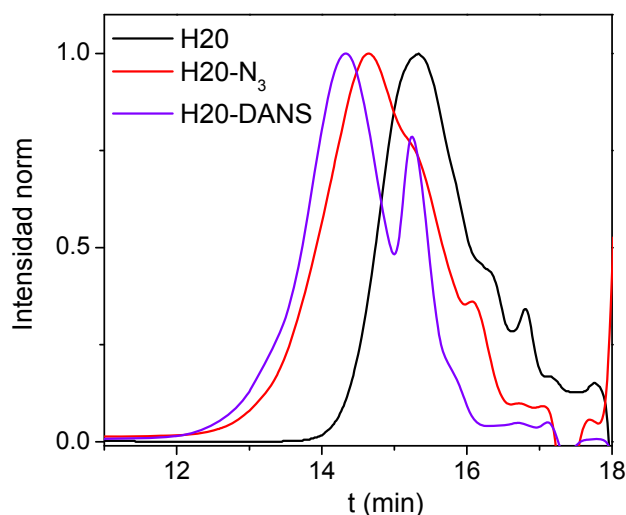


Figura 4.4. Cromatogramas de GPC para el polímero hiperramificado H20 y sus derivados.

Mediante TGA se analizó la pérdida de peso en función de la temperatura en el intervalo de 25-800°C bajo un flujo de nitrógeno. Las curvas del análisis termogravimétrico para los derivados de H20 se muestran en la Figura 4.5.

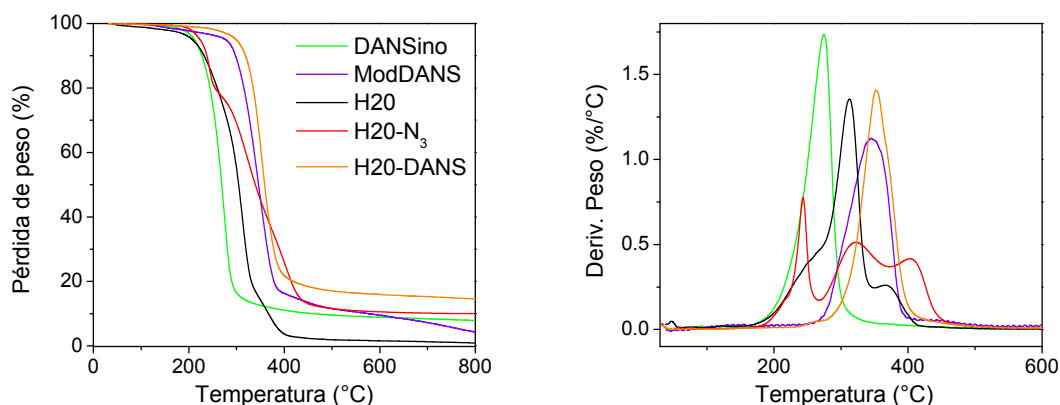


Figura 4.5. Termogramas de los cromóforos derivados de dansilo y los polímeros derivados de H20.

El polímero de partida H20 y su derivado H20-N₃ mostraron una degradación en tres etapas, mientras que el polímero H20-DANS mostró una mayor estabilidad térmica con $T_{\text{máx}}$ a 353°C. El porcentaje de residuo al final de la degradación fue 0.9% para H20, 10.0% para H20-N₃ y 14.6% para H20-DANS.

4.4. CARACTERIZACIÓN FOTOFÍSICA.

En este trabajo se ha llevado a cabo el estudio de las propiedades de absorción y emisión de todas las sondas fluorescentes sintetizadas, en 10 disolventes (ciclohexano, éter etílico, tolueno, THF, cloroformo, acetato de etilo, diclorometano, etanol, acetonitrilo y metanol) de muy diferente polaridad.

4.4.1. Estudio solvatocrómico.

Se denomina **solvatocromismo** o **efecto solvatocrómico** a la influencia del disolvente (y en general del entorno a nivel molecular) sobre la posición, intensidad y forma de las bandas de absorción y emisión de un compuesto, y viene determinado por la solvatación diferencial entre los estados electrónicos inicial y final del compuesto.

Este efecto se puede manifestar como un cambio en la intensidad de las bandas de absorción, tratándose el incremento en la intensidad como **efecto hipercrómico** y como **hipocromismo** cuando la intensidad de absorción decrece.

También se puede manifestar como un desplazamiento de la posición de las bandas. Los desplazamientos solvatocrómicos observados en los espectros de fluorescencia proporcionan una mayor información que la obtenida de los espectros de absorción.

Un desplazamiento del espectro de absorción o de emisión hacia mayores longitudes de onda se denomina **solvatocromismo positivo o desplazamiento batocrómico** y se debe a la mayor estabilización del primer estado excitado de la molécula al aumentar la polaridad del disolvente. Cuando tiene lugar el desplazamiento del espectro de absorción o de emisión hacia menores longitudes de onda al aumentar la polaridad del disolvente se denomina **solvatocromismo negativo o desplazamiento hipsocrómico** y se debe a una mayor estabilización del estado fundamental de la molécula.

El solvatocromismo depende de la estructura química del grupo cromóforo y de las propiedades físicas del disolvente, que condicionan la fuerza de las

interacciones intermoleculares soluto-disolvente. En general, un efecto solvatocrómico fuerte se relaciona con una variación en el momento dipolar de una molécula debido a una excitación electrónica. Para evaluar este efecto los modelos electrostáticos más simples utilizan constantes físicas como la constante dieléctrica estática, el momento dipolar permanente o el índice de refracción. Pero determinar cuantitativamente todas las interacciones moleculares en disolución es complejo, por lo que se han desarrollado escalas empíricas de polaridad basadas en cambios solvatocrómicos de algunos indicadores en disolución y se han definido varios parámetros empíricos de polaridad del disolvente.

En 1977 y 1983 los autores Kamlet, Abboud y Taft introducen y desarrollan la **escala π^*** , que mide los efectos de polaridad/polarizabilidad del disolvente.³ Inicialmente, esta escala se basó en el análisis del desplazamiento de la banda de absorción $\pi \rightarrow \pi^*$ de una serie de 7 compuestos nitroaromáticos, que presentan una transición electrónica intramolecular desde el sustituyente electrodonador al electroceptor a través del sistema aromático. El estado excitado es entonces más polar que el fundamental, observándose un solvatocromismo positivo. Los desplazamientos de estas bandas de absorción en diferentes disolventes permitieron la construcción de la escala de polaridad π^* . Posteriormente, se introdujeron otros compuestos indicadores y mejoraron las correlaciones soluto/disolvente, expandiendo la escala. Los parámetros π^* optimizados fueron normalizados, con un valor de 0.00 para ciclohexano y 1.00 para dimetil sulfóxido.

En 1994, y tras la extensa compilación “*Solvents and solvent effects in organic chemistry*” (1988), Reichardt establece el **parámetro empírico E_T30** , basándose en el efecto de solvatocromismo negativo del indicador betaína *N*-fenolato de piridinio, y empleando para su estudio una amplia gama de

³ (a) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Taft, R. W., The solvatochromic comparison method. 6. The π^* scale of solvent polarities. *Journal of American Chemistry Society* **1977**, 99, 6027-6038, (b) Kamlet, M. J.; Abboud, J. M. L.; Abraham, M. H.; Taft, R. W., Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters, π^* , α and β , and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation. *Journal of Organic Chemistry* **1983**, 48 (17), 2877-2887.

disolventes.⁴ Los valores de E_T30 se definen como la energía molar (kcal/mol) de la transición electrónica del indicador en disolución a temperatura ambiente y presión normal. Esta escala se normaliza tomando los disolventes *n*-heptano ($E_T30 = 30.9$) y agua ($E_T30 = 63.1$) como extremos de polaridad, y se expresa en forma adimensional.

En 1995, Catalán *et al.* desarrollan la **escala SPP** (solvent polarity-polarizability scale), que combina la dipolaridad del medio y polarizabilidad en un sólo parámetro calculado a partir de los desplazamientos batocrómicos de la primera banda de absorción electrónica de 2-dimetilamino-7-nitrofluoreno y 2-fluore-7-nitrofluoreno.⁵

Algunas sondas fluorescentes permiten estimar la polaridad local de un medio (en disolventes, en proteínas, en regiones de células...) a través del estudio de la posición, intensidad y forma de sus bandas de absorción y/o emisión, puesto que presentan una fuerte dependencia entre la absorción y la emisión con la polaridad del disolvente.

Con el objetivo de evaluar el efecto que produce el disolvente en los espectros de absorción y emisión de las sondas sintetizadas en este Trabajo, se han registrado dichos espectros en diferentes disolventes. Además, se han determinado experimentalmente los coeficientes de extinción molar (ϵ) en disolución.

A continuación, se presentan y discuten los resultados obtenidos agrupados por familias de cromóforos.

⁴ Reichardt, C., Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators. *Chemical Reviews* **1994**, *94*, 2319-2358.

⁵ Catalán, J.; López, V.; Pérez, P.; Martín-Villamil, R.; Rodríguez, J. G., Progress towards a generalized solvent polarity scale: The solvatochromism of 2-(dimethylamino)-7-nitrofluorene and its homomorph 2-fluoro-7-nitrofluorene. *Liebigs Annalen* **1995**, *2*, 241-252.

(i) **Derivados de dansilo:**

La familia de sondas derivada del cromóforo dansilo (DANSino, ModDANS, P1000-DANS y H2O-DANS) muestra las características espectroscópicas de las unidades dansilo,⁶ con bandas de absorción intensas en la región espectral del UV cercano (con λ_{abs} máxima alrededor de 254 y 340 nm, para las transiciones π - π^* y de transferencia de carga entre los grupos donador-aceptor, respectivamente) y una fuerte emisión de fluorescencia con una única banda. En la Figura 4.6 se muestran, a modo de ejemplo, los espectros normalizados de absorción UV y emisión de fluorescencia para estos cromóforos, utilizando cloroformo como disolvente.

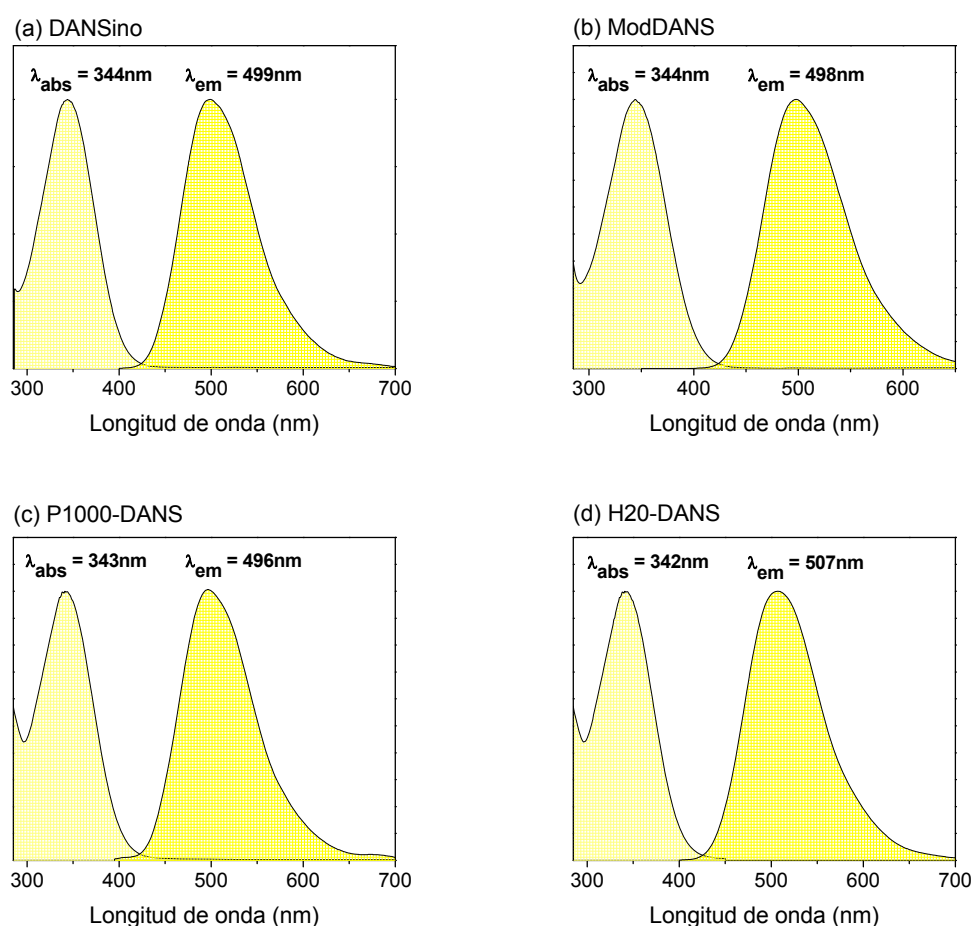


Figura 4.6. Espectros normalizados de absorción UV y de emisión de fluorescencia en disolución de cloroformo para (a) DANSino, (b) ModDANS, (c) P1000-DANS y (d) H2O-DANS.

⁶ Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd ed.; Springer: New York, 2006.

El máximo de absorción se encuentra a la misma longitud de onda en todos los casos (432-434 nm), y el espectro de emisión muestra un máximo a 496-498 nm para los cromóforos y el polímero P1000-DANS y a 507 nm para el polímero H20-DANS, lo que constata que las propiedades fotofísicas del sistema cromofórico se conservan después de la funcionalización de los polímeros hiperramificados. Se observa también que debido al elevado desplazamiento de Stokes el solapamiento entre la banda de absorción y la de emisión es mínimo.

A modo de ejemplo, en la Figura 4.7, se muestran las disoluciones en THF donde puede observarse la intensa emisión de fluorescencia de estos compuestos.

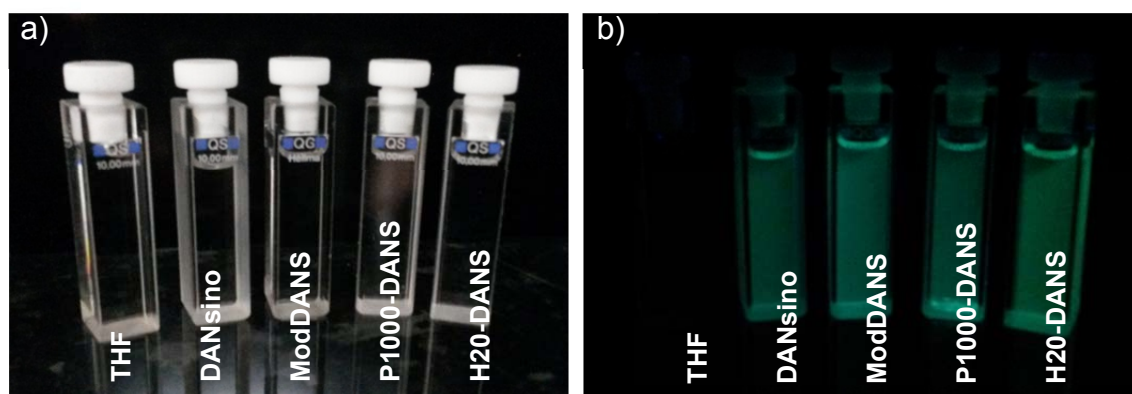


Figura 4.7. Fotografías de las cubetas de fluorescencia (a) a la luz natural y (b) bajo luz UV a $\lambda=365$ nm, de THF como referencia, DANSino, ModDANS, P1000-DANS y H20-DANS disueltos en THF.

Las características espectroscópicas de absorción y emisión para los cromóforos DANSino y ModDANS y los polímeros P1000-DANS y H20-DANS se han estudiado en una amplia variedad de disolventes, incluyendo los de tipo apolar, polar próticos y polar apróticos (Figura 4.8 y Tabla 4.1).

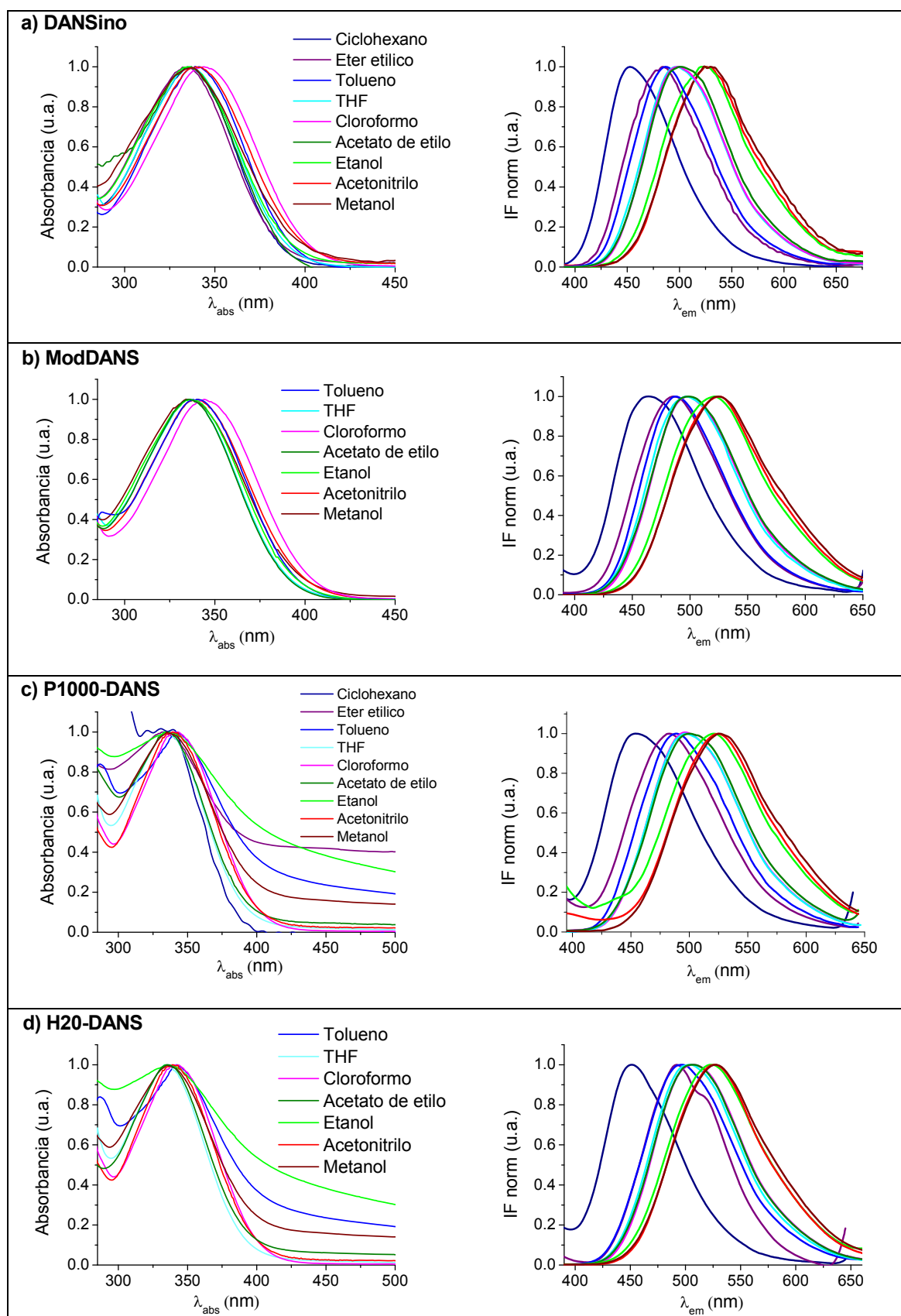


Figura 4.8. Espectros de absorción UV y de emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex}=340$ nm) para (a) cromóforo DANSino, (b) cromóforo ModDANS, (c) polímero P1000-DANS y (d) polímero H20-DANS, en disolución de varios disolventes: (---) ciclohexano, (---) éter etílico, (---) tolueno, (---) THF, (---) cloroformo, (---) acetato de etilo, (---) etanol, (---) acetonitrilo y (---) metanol.

La polaridad del disolvente ejerce poco efecto sobre la transición electrónica del estado fundamental del cromóforo, siendo todos los espectros de absorción similares y con muy poca variación en la posición del máximo (de hasta 5 nm).

Sin embargo, los espectros de emisión se desplazan progresivamente hacia el rojo con el aumento de la polaridad del disolvente, cambiando su λ_{em} desde 450 nm en ciclohexano hasta 528 nm en metanol. El aumento de polaridad del disolvente desplaza la emisión de fluorescencia hacia menores energías debido a la mayor estabilización del estado excitado por las moléculas de disolvente.⁷ La emisión de fluorescencia para los polímeros modificados P1000-DANS y H20-DANS presenta el mismo comportamiento solvatocrómico positivo que el DANSino e incluso más acusado que el de su correspondiente modelo, ModDANS. La banda de emisión se desplaza más de 70 nm cuando el disolvente varía desde uno apolar (ciclohexano) hasta uno polar (metanol).

Tabla 4.1. Longitudes de onda correspondientes al máximo de absorción (λ_{abs} , nm) y emisión (λ_{em} , nm) de las sondas DANSino, ModDANS, P1000-DANS y H20-DANS, y coeficientes de absorción molar (ϵ , L·mol⁻¹·cm⁻¹).

	DANSino			ModDANS			P1000-DANS			H20-DANS		
Disolvente	λ_{abs}	λ_{em}	ϵ	λ_{abs}	λ_{em}	ϵ	λ_{abs}	λ_{em}	ϵ	λ_{abs}	λ_{em}	ϵ
Ciclohexano	337	451	±	±	464	±	340	454	±	±	451	±
Eter etílico	335	484	±	±	486	±	332	483	±	±	492	±
Tolueno	341	487	±	340	487	±	342	489	±	334	497	±
THF	336	497	4950	337	496	5100	335	497	27850	335	504	54750
Cloroformo	344	499	4470	344	498	3810	343	496	29230	342	507	49110
Acetato de etilo	337	500	3611	336	499	3730	335	500	29090	335	507	±

⁷ Katan, C.; Terenziani, F.; Mongin, O.; Werts, M. H.; Porrès, L.; Pons, T.; Mertz, J.; Tretiak, S.; Blanchard-Desce, M., Effects of (multi)branching of dipolar chromophores on photophysical properties and two-photon absorption. *The journal of physical chemistry. A* **2005**, 109 (13), 3024-3037.

Etanol	335	523	3620	336	522	3530	335	520	24180	337	523	±
Acetonitrilo	340	526	4480	341	525	4290	339	523	24040	340	527	41090
Metanol	335	528	4260	336	525	3590	336	525	23270	337	528	±

(±) poco soluble

Los coeficientes de absorción molar son muy altos para DANSino y ModDANS, y concuerda con los valores de la literatura para cromóforos de esta familia.⁸ Los polímeros funcionalizados, presentan espectros de absorción cuya intensidad en el máximo es múltiplo del número de cromóforos que se han determinado por otras técnicas (análisis elemental y ¹H-RMN). Debido a la sensibilidad de este método espectroscópico, resulta un dato definitivo para la asignación de una modificación de 6 y 12 grupos funcionales en P1000-DANS y H20-DANS, respectivamente.

Debido a la baja solubilidad de las sondas en ciclohexano, éter etílico y tolueno, no ha sido posible realizar las medidas para obtener los coeficientes de absorción molar en dichos disolventes.

El comportamiento solvatocrómico de las sondas derivadas del dansilo se ha estudiado a partir de las escalas E_T30, SPP y π^* (Figura 4.9, 5.10 y 5.11, respectivamente), aceptadas para describir la dependencia de las longitudes de onda en los máximos de absorción y/o emisión con la polaridad del disolvente debido a que se considera que miden adecuadamente las interacciones dispersivas, inductivas y electrostáticas entre la sonda y el disolvente.

En la Tabla 4.2 se recopilan los parámetros empíricos E_T30, SPP y π^* de los disolventes empleados para llevar a cabo el estudio solvatocrómico de todas las sondas sintetizadas.

⁸ Weber, G., Polarization of the Fluorescence of Macromolecules. *Biochemical journal* **1952**, 51 (2), 155-167.

Tabla 4.2. Valores para los parámetros $E_T(30)$, SPP y π^* de los disolventes utilizados (1.- Ciclohexano, 2.- Éter etílico, 3.- Tolueno, 4.- Tetrahidrofurano, 5.- Cloroformo, 6.- Acetato de etilo, 7.- Diclorometano, 8.- Etanol, 9.- Acetonitrilo, 10.- Metanol).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$E_T(30)^{(a)}$ (kcal/mol)	30.9	34.5	33.9	37.4	39.1	38.1	40.7	51.9	45.6	55.4
SPP^(b)	0.557	0.694	0.66	0.838	0.786	0.795	0.876	0.853	0.895	0.857
$\pi^*^{(c)}$	0.00	0.27	0.54	0.58	0.58	0.55	0.82	0.54	0.75	0.60

(a) Ref. 3; (b) ref. 4; (c) ref. 2.

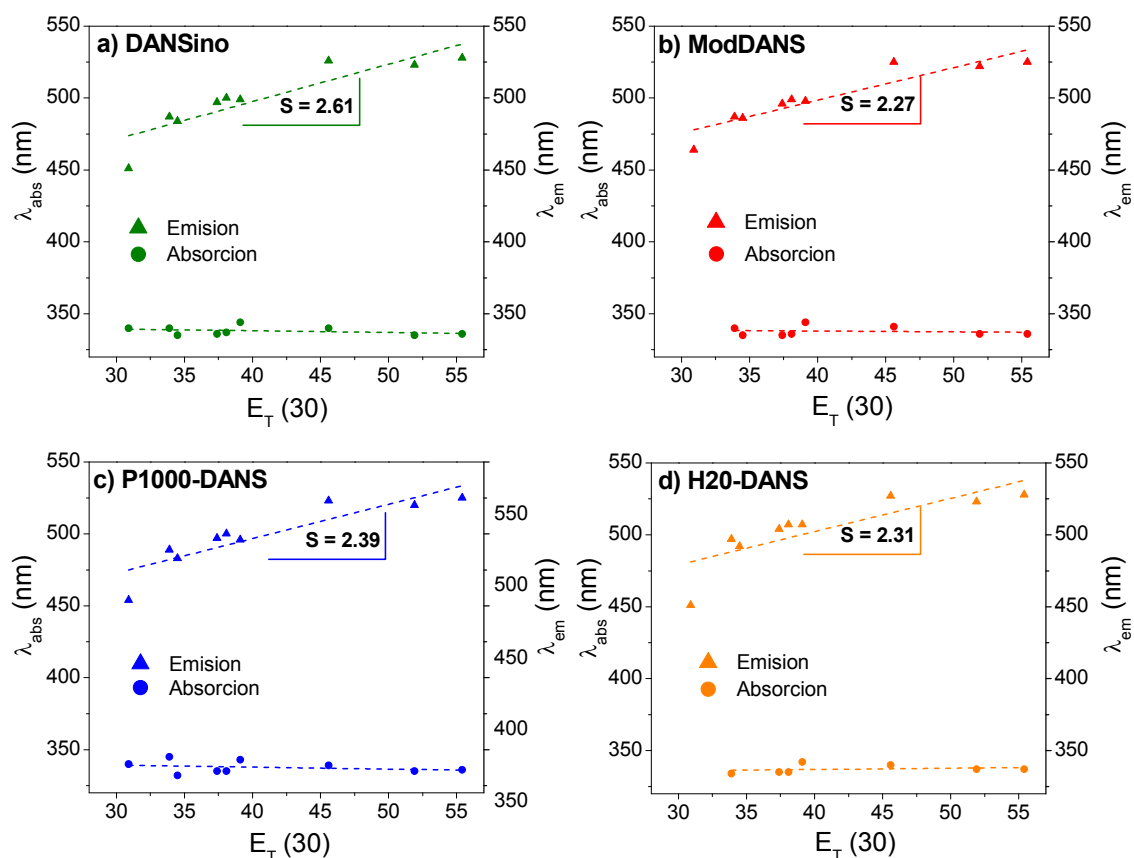


Figura 4.9. Correlación de las longitudes de onda en los máximos de absorción y emisión de las sondas (a) DANSino, (b) ModDANS, (c) P1000-DANS y (d) H2O-DANS con los correspondientes valores de $E_T(30)$.

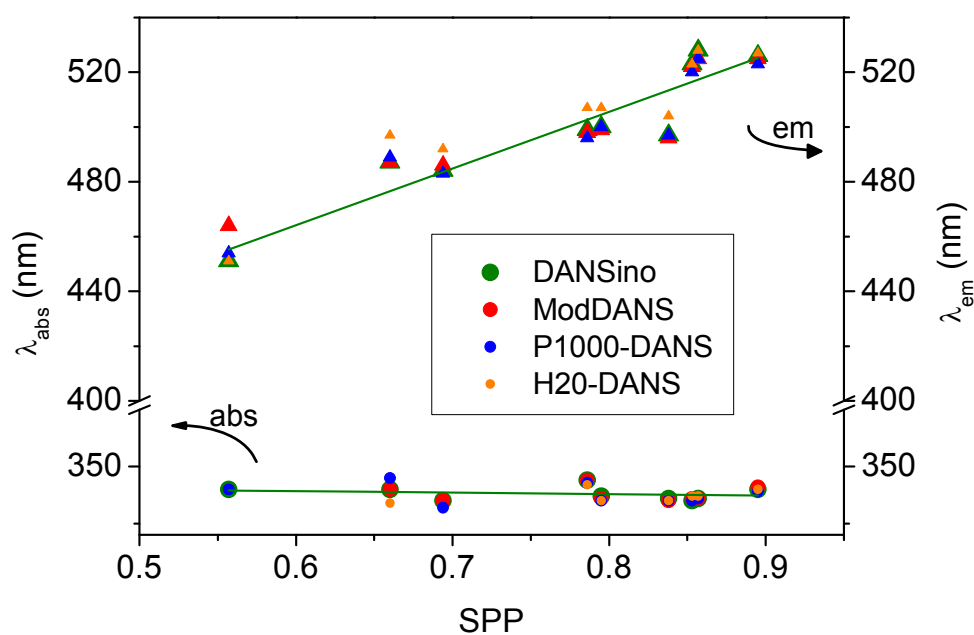


Figura 4.10. Correlación de las longitudes de onda en los máximos de absorción y emisión de las sondas con los correspondientes valores de SPP.

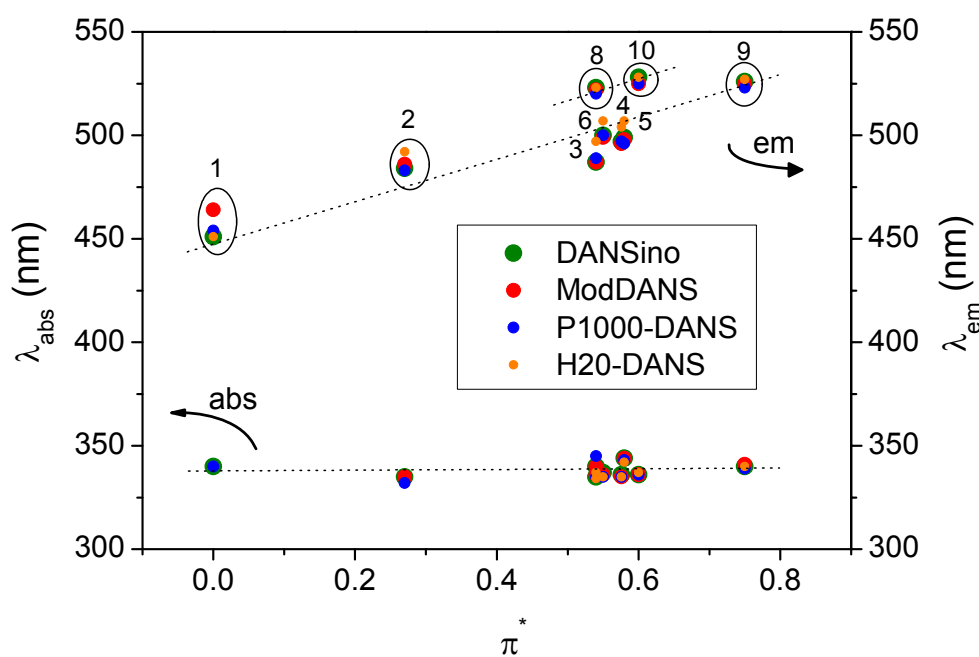


Figura 4.11. Correlación de las longitudes de onda en los máximos de absorción y emisión de las sondas con los correspondientes valores de π^* .

Como se puede observar en los gráficos, todas las correlaciones son buenas para cualquiera de las escalas empleadas. En todas las escalas se observa una dispersión muy baja de los valores encontrados, excepto para el disolvente

ciclohexano, extremadamente no polar. Las pendientes de las regresiones lineales indican la sensibilidad de la sonda a los cambios de polaridad del medio y, como se ha comentado, muestran una sensibilidad prácticamente nula en absorción y muy acusada en fluorescencia. Comparando los cromóforos libres con los polímeros, se observa que la sensibilidad de las sondas poliméricas frente a la polaridad del entorno no disminuye significativamente con respecto al cromóforo de bajo peso molecular.

La correlación también es muy buena cuando se utiliza la escala π^* , excepto para los disolventes capaces de formar enlaces de hidrógeno (etanol y metanol), en los cuales los máximos de emisión se desplazan batocrómicamente respecto a los disolventes sin enlaces de hidrógeno.^{2.b)} Ambas correlaciones presentan las mismas pendientes.

A la vista de los resultados, se puede concluir que las sondas derivadas del dansilo muestran una correlación lineal con los cambios en la polaridad del disolvente, y por tanto, son adecuadas para medir la polaridad del medio mediante los valores de las pendientes de las representaciones solvatocrómicas. Además, los derivados hiperramificados muestran la misma sensibilidad que los modelos de bajo peso molecular.

(ii) Derivados de naftalimida.

En el caso de las sondas derivadas de naftalimida (NAFTino y P1000-NAFT), las propiedades fotofísicas dependen de la polarización de las unidades 1,8-naftalimida. La absorción de un fotón produce la polarización de la molécula, como resultado de la interacción donador-aceptor de los electrones entre el sustituyente en C-4 y los grupos carbonilo de la estructura imida del sistema cromofórico.⁹ En ausencia de un sustituyente alquilamino electrodonador (-OR ó, -NR₂) los compuestos son incoloros y no fluorescentes, pero la sustitución

⁹ Grabchev, I.; Bojinov, V.; Petkov, C., Infrared absorption studies of some new 1,8-naphthalimides. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2003**, 39 (2), 179-183.

por un grupo donador de electrones en la posición 4 del anillo de naftaleno conduce a compuestos fluorescentes.¹⁰

En estos derivados el sustituyente es un grupo etiléndiamina y las disoluciones de cromóforo NAFTino y de polímero P1000-NAFT absorben en la región UV y emiten fluorescencia en el verde, en todos los disolventes estudiados. A modo de ejemplo, en la Figura 4.12, se muestran las disoluciones en cloroformo donde puede observarse la intensa emisión de fluorescencia en el verde de estos compuestos.

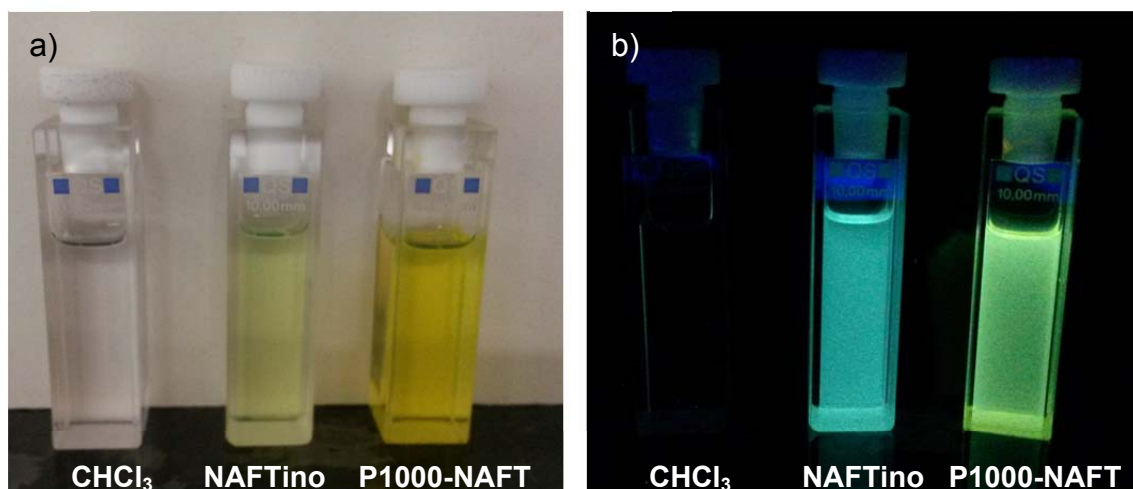


Figura 4.12. Fotografías de las cubetas de fluorescencia (a) a la luz natural y (b) bajo luz UV a $\lambda=365$ nm, de CHCl_3 como referencia, NAFTino y P1000-NAFT disueltos en CHCl_3 .

En la Figura 4.13 se muestran los espectros de absorción UV y emisión de fluorescencia para NAFTino y P1000-NAFT, utilizando cloroformo como disolvente.

¹⁰ Michael S. Alexiou, V. T., Shohreh Ghorbanian, John H. P. Tyman, Robert G. Brown and Patrick I. Brittain The UV–visible absorption and fluorescence of some substituted 1,8-naphthalimides and naphthalic anhydrides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1990**, (5), 837-842.

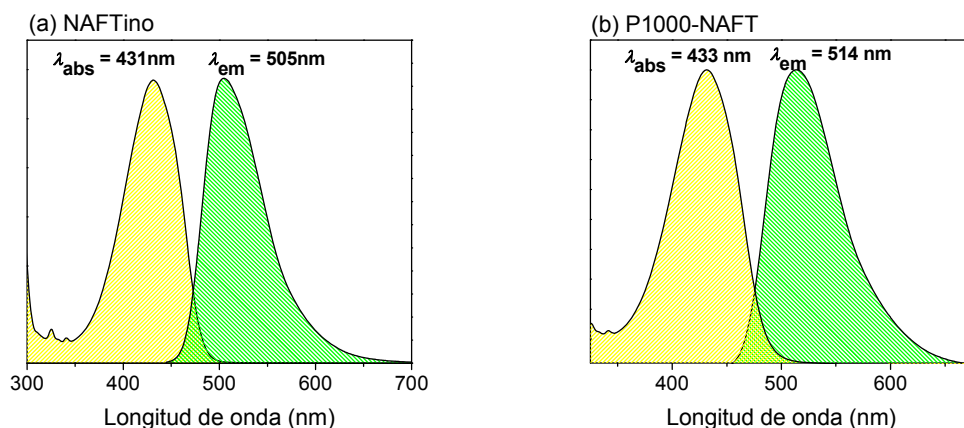
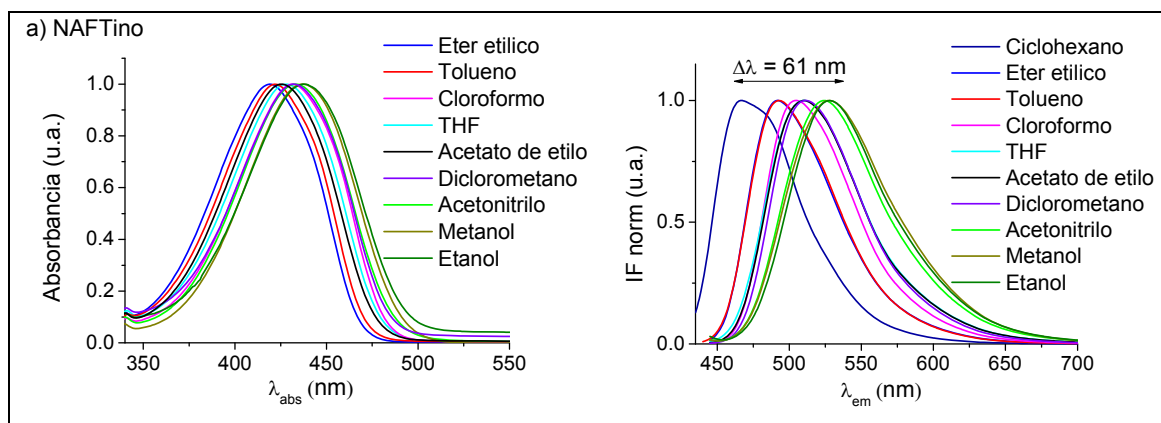


Figura 4.13. Espectros de absorción UV y de emisión de fluorescencia en disolución de cloroformo para (a) cromóforo NAFTino y (b) polímero P1000-NAFT.

El máximo de absorción se encuentra a una longitud de onda similar en ambos casos (431 nm y 433 nm), y el espectro de emisión muestra un máximo a 505 nm para el NAFTino y a un máximo a 514 nm para el polímero P1000-NAFT, lo que constata que las propiedades fotofísicas del sistema cromofórico se conservan después de la funcionalización del polímero hiperramificado.

Las características espectroscópicas para el cromóforo NAFTino y el polímero P1000-NAFT se han estudiado en una amplia variedad de disolventes, incluyendo los de tipo apolar, polar próticos y polar apróticos (Figura 4.14 y Tabla 4.3).



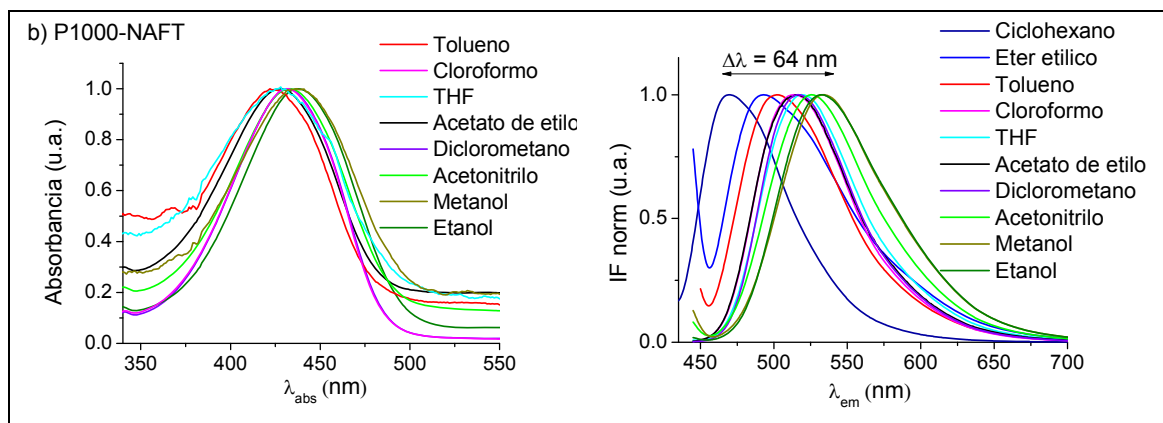


Figura 4.14. Espectros de absorción UV y de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$) para (a) NAFTino y (b) polímero P1000-NAFT en disolución de varios disolventes: (---) ciclohexano, (---) éter etílico, (---) tolueno, (---) cloroformo, (---) THF, (---) acetato de etilo, (---) diclorometano, (---) acetonitrilo, (---) metanol, (---) etanol.

Tabla 4.3. Longitudes de onda correspondientes al máximo de absorción (λ_{abs}) y emisión (λ_{em}), y coeficiente de extinción molar (ϵ) de las sondas NAFTino y P1000-NAFT.

	NAFTino			P1000-NAFT		
Disolvente	λ_{abs}	λ_{em}	$\epsilon \text{ (L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	λ_{abs}	λ_{em}	$\epsilon \text{ (L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$
Ciclohexano	413	467	-	415	470	-
Éter etílico	419	492	-	422	493	-
Tolueno	422	493	10820	429	503	(\pm)
Cloroformo	431	505	12220	433	514	61000
AcOEt	425	511	14640	427	515	(\pm)
Diclorometano	432	512	13350	432	517	61550
THF	428	510	15720	430	519	60750
Acetonitrilo	433	524	12250	433	526	33470
Etanol	438	528	13350	438	533	50460
Metanol	437	528	12740	437	534	43900

(\pm) poco soluble

(-) insoluble

Las sondas derivadas de la naftalimida resultan insolubles en los disolventes de menor polaridad, éter etílico y ciclohexano. El resto de disolventes permiten una suficiente solubilidad de las sondas en las concentraciones estudiadas, siendo en cloroformo, diclorometano y tetrahidrofurano, en ese orden, donde mostraron una mejor solubilidad.

Como se puede ver en la Figura 4.14, la fluorescencia de NAFTino y P1000-NAFT es también muy dependiente del disolvente utilizado. El HBP presenta el mismo solvatocromismo positivo observado para el cromóforo libre. Si se comparan los espectros obtenidos para todos los disolventes, se puede ver que las posiciones de los máximos de absorción y emisión en el polímero se desplazan batocrómicamente con respecto a los del cromóforo.

Los parámetros empíricos o escalas que determinan la polaridad, E_T30 , SPP y π^* se han utilizado de forma análoga al análisis realizado para las sondas derivadas del dansilo.

En la Figura 4.15 se muestran las representaciones de longitud de onda en el máximo de absorción y de emisión de fluorescencia frente a los valores empíricos correspondientes para cada disolvente en la escala E_T30 .

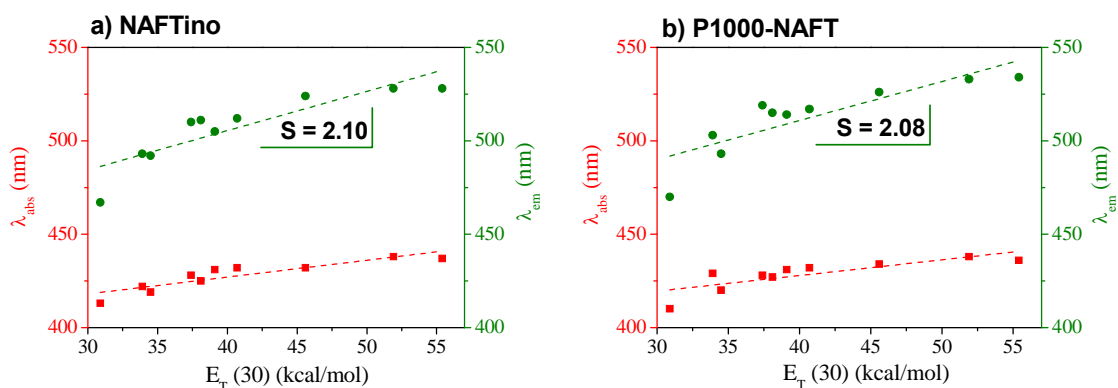


Figura 4.15. Correlación de las longitudes de onda en los máximos de absorción (●) y emisión (■) con los correspondientes valores de E_T30 para las sondas (a) NAFTino y (b) P1000-NAFT.

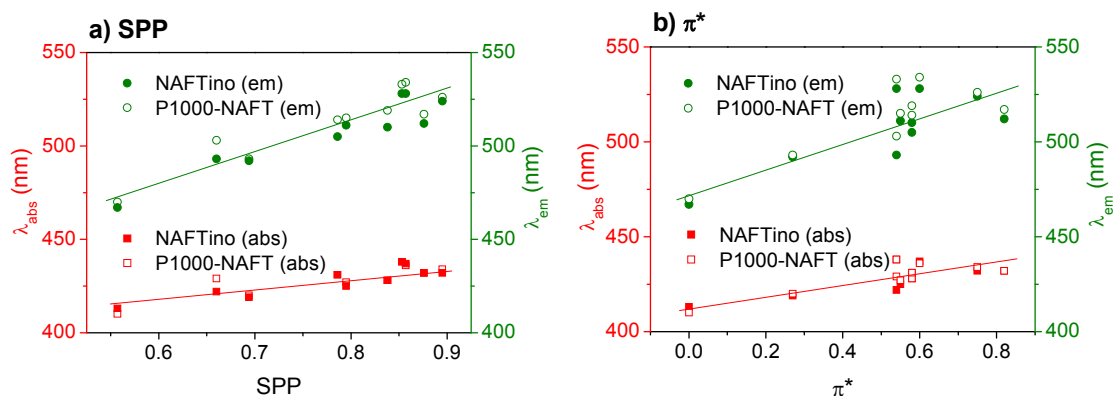


Figura 4.16. Correlación de las longitudes de onda en los máximos de absorción y emisión con los correspondientes valores de (a) escala SPP y (b) escala π^* para las sondas NAFTino (■, ●) y P1000-NAFT (□, ○).

Todas las correlaciones son buenas para las tres escalas empleadas. Se observa que el comportamiento tanto en la emisión como en absorción es similar para el cromóforo y el polímero, presentando ambos la misma sensibilidad a las variaciones de polaridad en su microentorno. Además, cabe destacar que estas sondas muestran una ligera sensibilidad a la polaridad del disolvente en el estado fundamental.

Por tanto, y como ocurría con los derivados de DANS, las sondas derivadas de naftalimida muestran una correlación lineal con a los cambios en la polaridad del disolvente, y por tanto, son adecuadas para medir la polaridad del entorno. Los derivados hiperramificados también muestran la misma sensibilidad que los modelos de bajo peso molecular.

(iii) Derivados de acridina.

Por último, se han caracterizado las longitudes de onda de los máximos de absorción y emisión de las sondas de transferencia de carga intramolecular derivadas del cromóforo acridina (ACRIDino y P1000-ACRID).

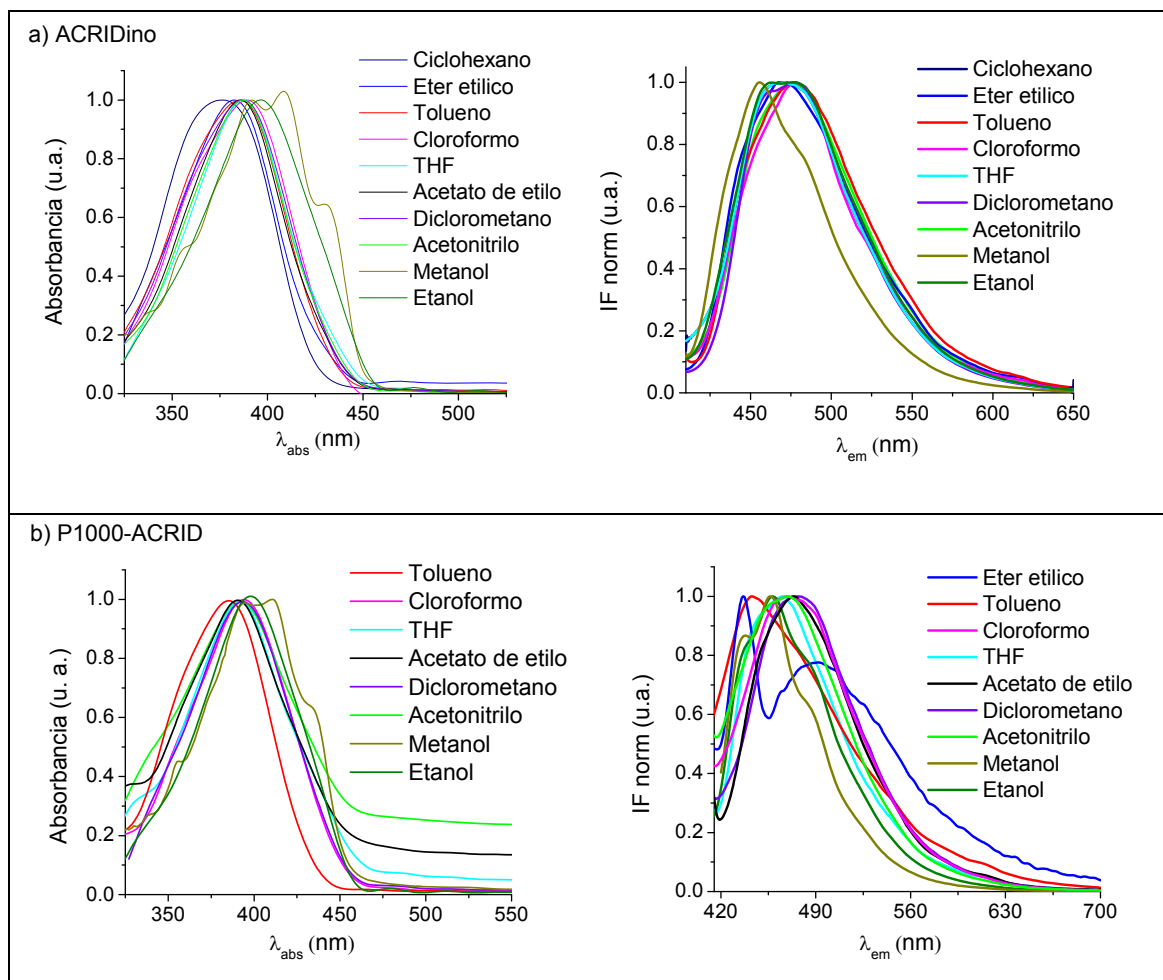


Figura 4.17. Espectros de absorción UV y de emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 385$ nm) para (a) cromóforo ACRIDino y (b) polímero P1000-ACRID en disolución de varios disolventes: (---) ciclohexano, (---) éter etílico, (---) tolueno, (---) cloroformo, (---) THF, (---) acetato de etilo, (---) diclorometano, (---) acetonitrilo, (---) metanol y (---) etanol.

En la Tabla 4.4 se presentan las longitudes de onda de los máximos de absorción y emisión, así como los coeficientes de absorción molar.

Tabla 4.4. Longitudes de onda correspondientes al máximo de la banda de transferencia de carga en absorción (λ_{abs}) y emisión (λ_{em}), y coeficiente de extinción molar (ϵ) de las sondas ACRIDino y P1000-ACRID.

Disolvente	ACRIDino			P1000-ACRID		
	λ_{abs}	λ_{em}	$\epsilon \text{ (L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\text{)}$	λ_{abs}	λ_{em}	$\epsilon \text{ (L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\text{)}$
Ciclohexano	377	477	7730	-	-	-
Éter etílico	382	470	7750	-	436, 491	-
Tolueno	383	478	6160	380	443	±
Cloroformo	393	478	7570	393	469	41670
Acetato de etilo	383	476	7400	390	474	±
Diclorometano	385	477	7300	392	477	41550
THF	387	471	7660	392	466	47710
Acetonitrilo	386	476	7650	391	470	32550
Etanol	392	477	7310	395	458	40920
Metanol	392	456	7190	395	457	40330

(±) poco soluble

(-) insoluble

La sonda monocromofórica ACRIDino resultó soluble en toda la variedad de disolventes utilizados, mientras que la sonda polimérica P1000-ACRID resultó insoluble en los disolventes de menor polaridad (éter etílico y ciclohexano). No fue posible tampoco preparar disoluciones en tolueno y acetato de etilo en el rango de concentraciones que permitiera el cálculo del coeficiente de absorción en dichos disolventes.

Las sondas derivadas de acridina presentan una banda de absorción muy intensa en torno a 380-390 nm y una fuerte emisión de fluorescencia en la región del visible, característica de los derivados 9-aminoacridina.¹¹ Los

¹¹ (a) Albert, A., *The Acridines*. 2nd ed.; Edward Arnold Ltd.: London, 1966, (b) Ebead, Y.; Roshal, A. D.; Wroblewska, A.; Doroshenko, A. O.; Błazejowski, J., Tautomerism of acridin-9-amines substituted at the exocyclic nitrogen atom: spectroscopic investigations and theoretical

máximos de absorción presentan un desplazamiento pequeño (15 nm) al variar la polaridad del disolvente entre ciclohexano y metanol.

Como se puede ver en la Figura 4.17, la fluorescencia de ACRIDino presenta una sola banda de emisión. Esta banda no muestra un desplazamiento significativo de la emisión con la variación de la polaridad del medio. Por otro lado, en la emisión de fluorescencia del P1000-ACRID se observan dos bandas cuando el disolvente es éter etílico, una banda con dos hombros para los disolventes polares próticos y una única banda para el resto de disolventes. El HBP tampoco muestra un desplazamiento de la emisión con la polaridad del disolvente.

Los valores de los coeficientes de absorción molar son elevados para ambas sondas. En el caso del P1000-ACRID, estos coeficientes presentan una correlación lineal con el número de cromóforos que poseen, confirmándose una modificación de 6 grupos cromóforo por molécula de P1000.

- DESPLAZAMIENTO DE STOKES.

En la emisión de fluorescencia, se emite un fotón de energía, regresando el fluoróforo a su estado fundamental S_0 . Debido a la disipación de energía durante el tiempo de vida del estado excitado, la energía de este fotón es menor que la del fotón absorbido y por lo tanto, de mayor longitud de onda. El **desplazamiento de Stokes** es un parámetro que indica la diferencia de energía entre el estado fundamental y el primer estado excitado, y se calcula a partir de la Ecuación 4.1.

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_{\text{abs}} - \bar{\nu}_{\text{em}} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

siendo $\bar{\nu}_{\text{abs}}$ el número de onda en el máximo de absorción [$\bar{\nu}_{\text{abs}} = 1/\lambda_{\text{abs}} (\text{max})$] y $\bar{\nu}_{\text{em}}$ el número de onda en el máximo de emisión [$\bar{\nu}_{\text{em}} = 1/\lambda_{\text{em}} (\text{max})$], ambos en cm^{-1} .

En la Tabla 4.5 se muestran los desplazamientos de Stokes de los cromóforos y los polímeros modificados, en diferentes disolventes.

Tabla 4.5. Desplazamiento de Stokes de las sondas DANSino, ModDANS, P1000-DANS, H2O-DANS, NAFTino, P1000-NAFT, ACRIDino y P1000-ACRID.

	DANSino	ModDANS	P1000-DANS	H2O-DANS	NAFTino	P1000-NAFT	ACRIDino	P1000-ACRID
Disolvente	Desplazamiento de Stokes, $\Delta\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)							
Ciclohexano	7239	-	7385	-	2800	3114	5561	-
Éter etílico	9190	9275	9417	-	3541	3526	4901	-
Tolueno	8878	8878	8536	9819	3525	3429	5189	3742
THF	9641	9690	9730	10010	3757	3988	4525	4123
Cloroformo	9030	8990	8993	9516	3400	3747	5101	4544
AcOEt	9674	9722	9851	10127	3960	4002	5010	4546
Diclorometano	No medido				3617	3806	4608	4051
Acetonitrilo	10400	10278	10378	10436	4064	4137	4986	4299
Etanol	10730	10605	10620	10553	3892	4069	4546	3435
Metanol	10823	10714	10714	10734	3944	4209	2520	2508

En todos los casos se observa un desplazamiento positivo.

En los derivados de dansilo, los valores son elevados y no se observa un aumento significativo con el incremento de unidades cromofóricas en la molécula, siendo los valores similares entre los polímeros, y de éstos con los modelos.

En los derivados de naftalimida, se observa que los desplazamientos de Stokes son mayores en el caso de los disolventes más polares.

Al no ser solvatocrómicos los derivados de acridino, no se observa una relación entre el valor del desplazamiento de Stokes con la variación en la polaridad del medio.

4.4.2. Rendimiento cuántico de fluorescencia.

El rendimiento cuántico de un proceso de fluorescencia mide la eficacia de la desactivación del primer estado excitado singlete por un mecanismo radiativo, y se calcula mediante la relación entre los fotones absorbidos y los emitidos a través de la fluorescencia.

En las Tablas 4.6, 4.7 y 4.8 se muestran los rendimientos cuánticos de fluorescencia de todos los cromóforos sintetizados y de los polímeros funcionalizados, en los disolventes en los que ha sido posible su medida, para los que se han utilizado los índices de refracción descritos en la bibliografía.¹²

Tabla 4.6. Rendimientos cuánticos de las sondas DANSino, ModDANS, P1000-DANS y H2O-DANS ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$).

Disolvente	η	Φ_F			
		DANSino	ModDANS	P1000-DANS	H2O-DANS
Acetonitrilo	1.3441	0.21	0.25	0.21	0.24
Etanol	1.3614	0.19	0.28	0.21	-
Metanol	1.3284	0.18	0.21	0.16	-
Cloroformo	1.4458	0.39	0.40	0.36	0.34
THF	1.4072	0.27	0.33	0.35	0.32

¹² Polyanskiy, M. N. Refractive index database. (accessed Feb. 30, 2013).

Los Φ_F obtenidos para todos los derivados de dansilo son similares a los descritos en la bibliografía para este cromóforo.¹³ Se observa además que ambos derivados HBP tienen un Φ_F similar a los compuestos de bajo peso molecular, lo que significa que el cromóforo mantiene sus propiedades fotofísicas cuando está unido químicamente al HBP, comportándose como si se tratara de unidades independientes. Esto sucede incluso para la molécula altamente modificada de H20-DANS, la cual dispone una media de 12 grupos dansilo por molécula en torno a una arquitectura relativamente pequeña. Cabe destacar que este comportamiento es diferente al descrito en la literatura para dendrímeros homólogos. En estas estructuras se ha visto una disminución del rendimiento cuántico a medida que aumenta la generación del dendrímero, y la aparición de la emisión correspondiente al excímero.¹³ Esto no sucede en nuestros HBPs. Nosotros no observamos ni la aparición de excímero en el espectro de fluorescencia ni la disminución de los rendimientos cuánticos (lo cual implicaría otros mecanismos de desactivación) y atribuimos este hecho a que la irregularidad de la estructura de HBP impide la desactivación bimolecular entre cromóforos.

Los resultados obtenidos para NAFTino y P1000-NAFT muestran que el Φ_F depende mucho de la polaridad del disolvente. El proceso de PET (Photoinduced Electron Transfer) se favorece en disolventes orgánicos polares, lo que conlleva a menores valores del rendimiento cuántico.¹⁴ Este efecto se observa tanto para el cromóforo libre como para el polímero.

¹³ Vögtle, F.; Gestermann, S.; Kauffmann, C.; Ceroni, P.; Vicinelli, V.; Cola, L. D.; Balzani, V., Poly(Propylene Amine) Dendrimers with Peripheral Dansyl Units: Protonation, Absorption Spectra, Photophysical Properties, Intradendrimer Quenching, and Sensitization Processes. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121 (51), 12161–12166.

¹⁴ Grabchev, I.; Staneva, D., Photophysical Properties of new Polymerizable 1,8-Naphthalimides and their Copolymers with Methylmethacrylate. *Zeitschrift für Naturforschung A* **2003**, 58a, 558-562.

Tabla 4.7. Rendimientos cuánticos de las sondas NAFTino y P1000-NAFT ($\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$).

Disolvente	η	Φ_F	
		NAFTino	P1000-NAFT
Tolueno	1.4969	0.61	0.35
Cloroformo	1.4458	0.57	0.22
Diclorometano	1.4241	0.59	0.16
THF	1.4072	0.47	0.12
AcOEt	1.3724	0.23	0.09
Etanol	1.3614	0.02	0.01
Acetonitrilo	1.3441	0.03	0.02
Metanol	1.3284	0.02	0.01

Además, los valores de Φ_F obtenidos son menores en el polímero que en el compuesto monocromofórico. Diversos autores han observado este comportamiento en compuestos referibles cuando se ancla un derivado de naftalimida a un polímero, aunque las explicaciones a este fenómeno son escasas.

Cao y Webber han observado la formación de excímero al modificar una polialil-amina lineal,¹⁵ aunque en el presente Trabajo no se ha detectado la formación de excímero en ningún disolvente ni siquiera a altas concentraciones.

Grabchev *et al.* sintetizan un dendrímero de esqueleto poli(amidoamina) con unidades 1,8-naftalimida en la periferia y atribuyen los valores de Φ_F

¹⁵ Cao, T.; Webber, S. E., Photophysics of substituted 1,8-naphthalimides bound to a poly(allylamine) polymer. *Macromolecules* **1991**, 24 (1), 79-86.

relativamente bajos debido al proceso PET que puede ocurrir entre los grupos amino del esqueleto polimérico y las unidades naftalimida de la periferia.¹⁶

Además, los valores bajos de Φ_F pueden ser debidos a la disminución de coplanaridad de la molécula originada por factores estéricos.¹⁷

Nosotros creemos que el descenso en Φ_F es debido a que las restricciones estéricas que aparecen al anclar el cromóforo al esqueleto polimérico favorecen el proceso PET, ya que hemos observado que la emisión de fluorescencia del NAFTino en disolución disminuye al aumentar la viscosidad de la misma (Figura 4.18).

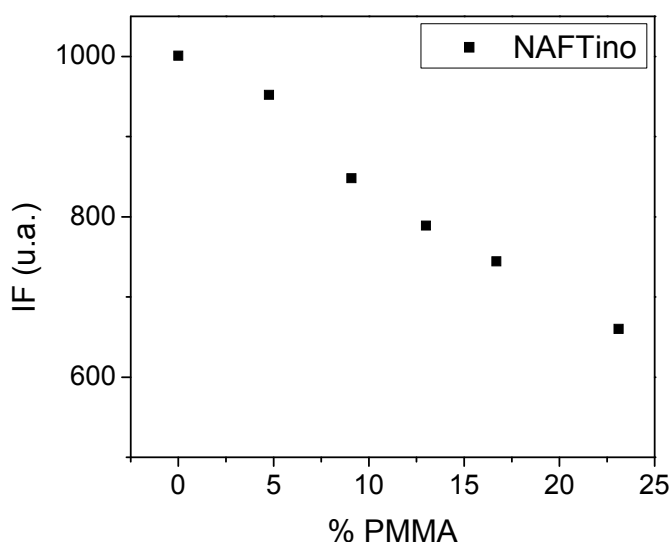


Figura 4.18. Emisión de fluorescencia de NAFTino en disolución de ACN (λ_{ex} =430 nm) en función del porcentaje de PMMA 120 kDa añadido.

¹⁶ Grabchev, I.; Chovelon, J.-M.; Bojinov, V.; Ivanova, G., Poly(amidoamine) dendrimers peripherally modified with 4-ethylamino-1,8-naphthalimide. Synthesis and photophysical properties. *Tetrahedron* **2003**, 59 (48), 9591-9598.

¹⁷ Grabchev, I., Photophysical Characteristics of Polymerizable 1,8-Naphthalimide Dyes and their Copolymers with Styrene or Methylmethacrylate. *Dyes and Pigments* **1998**, 38 (4), 219-226.

Las sondas ACRIDino y P1000-ACRID, como sus homólogos descritos en la literatura, son esencialmente no fluorescentes en todos los disolventes estudiados, y el derivado hiperramificado muestra los mismos valores que el cromóforo de bajo peso molecular.

Tabla 4.8. Rendimientos cuánticos de las sondas ACRIDino y P1000-ACRID (λ_{ex} =385 nm).

Disolvente	η	Φ_F	
		ACRIDino	P1000-ACRID
Tolueno	1.4969	0.00	-
Cloroformo	1.4458	0.01	0.02
THF	1.4072	0.10	0.02
Acetonitrilo	1.3441	0.01	0.02
Etanol	1.3614	0.07	0.08
Metanol	1.3284	0.08	0.10

CAPÍTULO 5

ESTUDIO DE LAS SONDAS COMO SENSORES DE ESPECIES A^{n+} EN DISOLUCIÓN

5. ESTUDIO DE LAS SONDAS COMO SENSORES DE ESPECIES A^{n+} EN DISOLUCIÓN.

En este Trabajo se ha evaluado la sensibilidad de las sondas derivadas de naftalimida frente a la presencia de metales catiónicos y especies ácidas en disolución, así como la sensibilidad de los derivados de acridina frente a la presencia de especies ácidas en disolución.

5.1. SENSIBILIDAD DE LAS SONDAS A METALES (M^{n+}) EN DISOLUCIÓN.

Se ha llevado a cabo el estudio de la sensibilidad de las sondas derivadas de naftalimida a cationes metálicos en disolución, para lo que se han utilizado las sales metálicas $[Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O]$, $[Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$, $[Cd(ClO_4)_2 \cdot H_2O]$, $[Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O]$, $[CuCl_2 \cdot 2H_2O]$, $[FeCl_3 \cdot 6H_2O]$, $AgNO_3$ y $HgCl_2$. Estas sales se han seleccionado debido a su razonable solubilidad en acetonitrilo.

En las valoraciones metal-cromóforo se emplearon disoluciones de las sondas NAFTino y P1000-NAFT en acetonitrilo, con una concentración de 10^{-6} M. Las disoluciones de los metales divalentes se prepararon en agua en concentraciones del orden de 10^{-3} M, y se utilizó acetonitrilo en las diluciones sucesivas hasta alcanzar la concentración deseada. El acetonitrilo se eligió como disolvente por garantizar una buena solubilidad de las sondas NAFTino y P1000-NAFT y por el bajo rendimiento cuántico de fluorescencia que presentan las sondas en él ($\Phi_F = 0.03$ y 0.02 , respectivamente).

Partiendo de 2.5 mL de disolución de sonda 10^{-6} M en la cubeta de fluorescencia, se añadieron sucesivas alícuotas de 20 μ L de disolución de metal, mediante microjeringuilla Hamilton de 50 μ L, hasta alcanzar un valor máximo de emisión de fluorescencia constante. El proceso de coordinación se monitorizó para cada adición registrándose los espectros de emisión de

fluorescencia correspondientes y eligiendo el máximo de absorción de las sondas en acetonitrilo como la longitud de onda de excitación ($\lambda_{\text{ex}} = 433 \text{ nm}$).

En ausencia de sales metálicas, el cromóforo NAFTino tiene una emisión de fluorescencia muy débil en acetonitrilo. La adición de cationes metálicos produjo un incremento importante de la intensidad de fluorescencia de la sonda para todos los metales ensayados: Zn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} y Fe^{3+} .

La Figura 5.1 muestra, a modo de ejemplo, los cambios en la intensidad de emisión de fluorescencia de NAFTino en función de la concentración de cationes Ni^{2+} y Fe^{3+} , hasta alcanzar un valor constante.

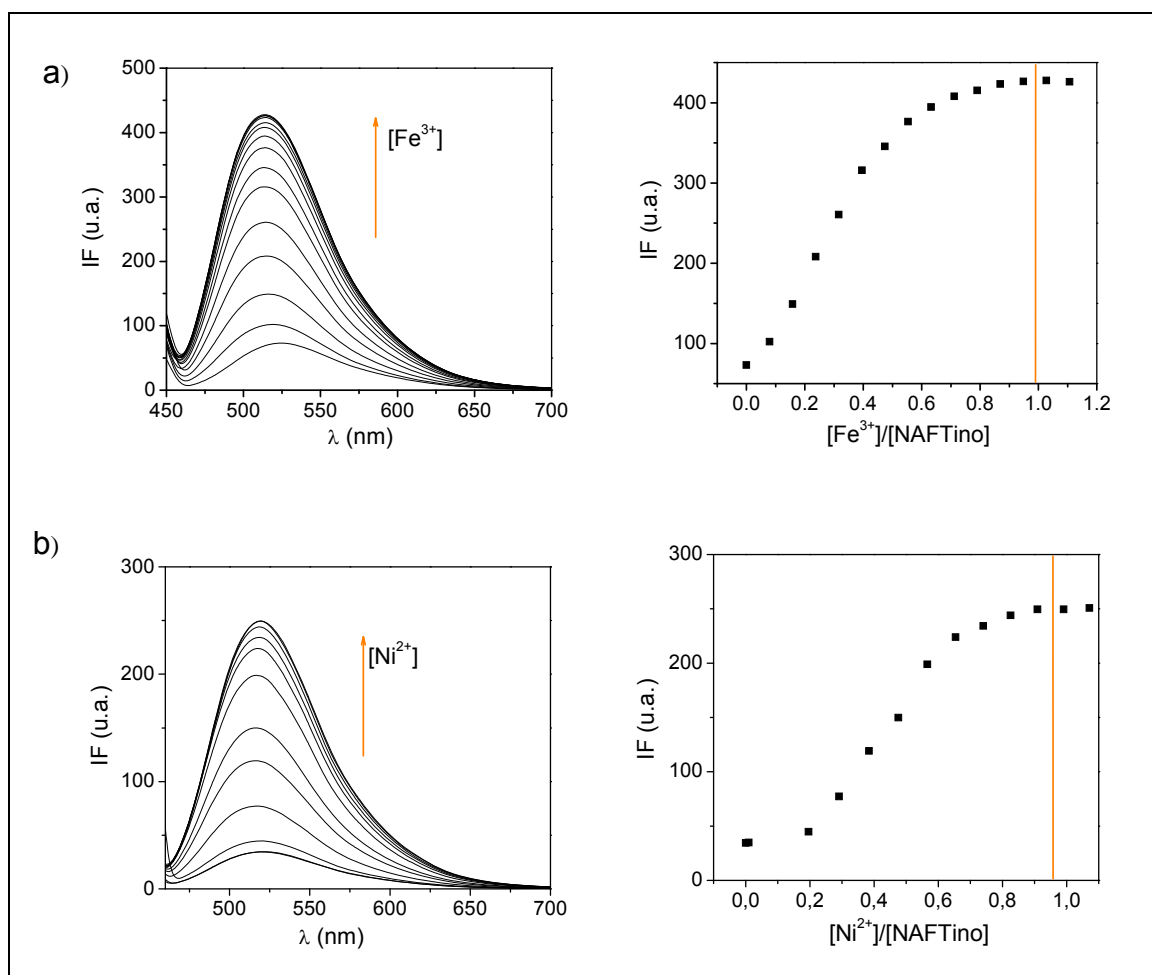
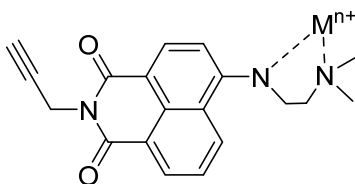


Figura 5.1. Variación de los espectros de emisión de fluorescencia de NAFTino en disolución de acetonitrilo 10^{-6} M ($\lambda_{\text{ex}} = 433 \text{ nm}$) durante la adición de alícuotas de las sales (a) $[\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ y (b) $[\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ en disolución de acetonitrilo $2 \times 10^{-5} \text{ M}$.

La concentración umbral detectable fue en todos los casos inferior a 80 ppb aunque la sensibilidad a bajas concentraciones fue algo menor para Ni^{2+} y Ag^+ ,

donde la variación de la intensidad de fluorescencia frente a la relación de concentración entre el catión y el cromóforo presentó una forma sigmoidea.

En todos los casos, la intensidad de fluorescencia alcanza un máximo cuando la relación $[M^{n+}]/[\text{cromóforo}]$ es equimolecular. Por tanto, cada molécula de NAFTino forma un complejo con un catión metálico, de forma análoga a otros derivados descritos en la bibliografía (Esquema 5.2).¹



Esquema 5.2. Coordinación entre el catión metálico y la sonda NAFTino en disolución.

La sensibilidad de la sonda a la presencia de cada metal se suele indicar como el incremento de fluorescencia durante el proceso de coordinación (*Fluorescence Enhancement*, FE). El factor de sensibilidad, $FE = I/I_0$, se determina por la relación entre el máximo de intensidad de fluorescencia después de la adición de cationes metálicos (I) y el máximo de intensidad de fluorescencia de la disolución de cromóforo inicial (I_0).

En la Figura 5.2 se muestran los valores obtenidos de FE para NAFTino en presencia de todos los cationes metálicos ensayados.

¹ Grabchev, I.; Chovelon, J. M.; Qian, X., A copolymer of 4-N,N-dimethylaminoethylene-N-allyl-1,8-naphthalimide with methylmethacrylate as a selective fluorescent chemosensor in homogeneous systems for metal cations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2003**, 158 (1), 37-43.

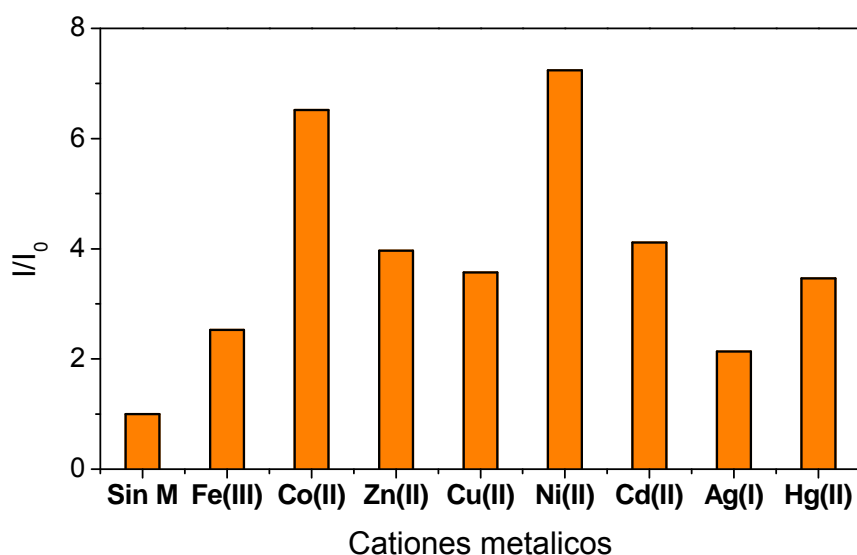
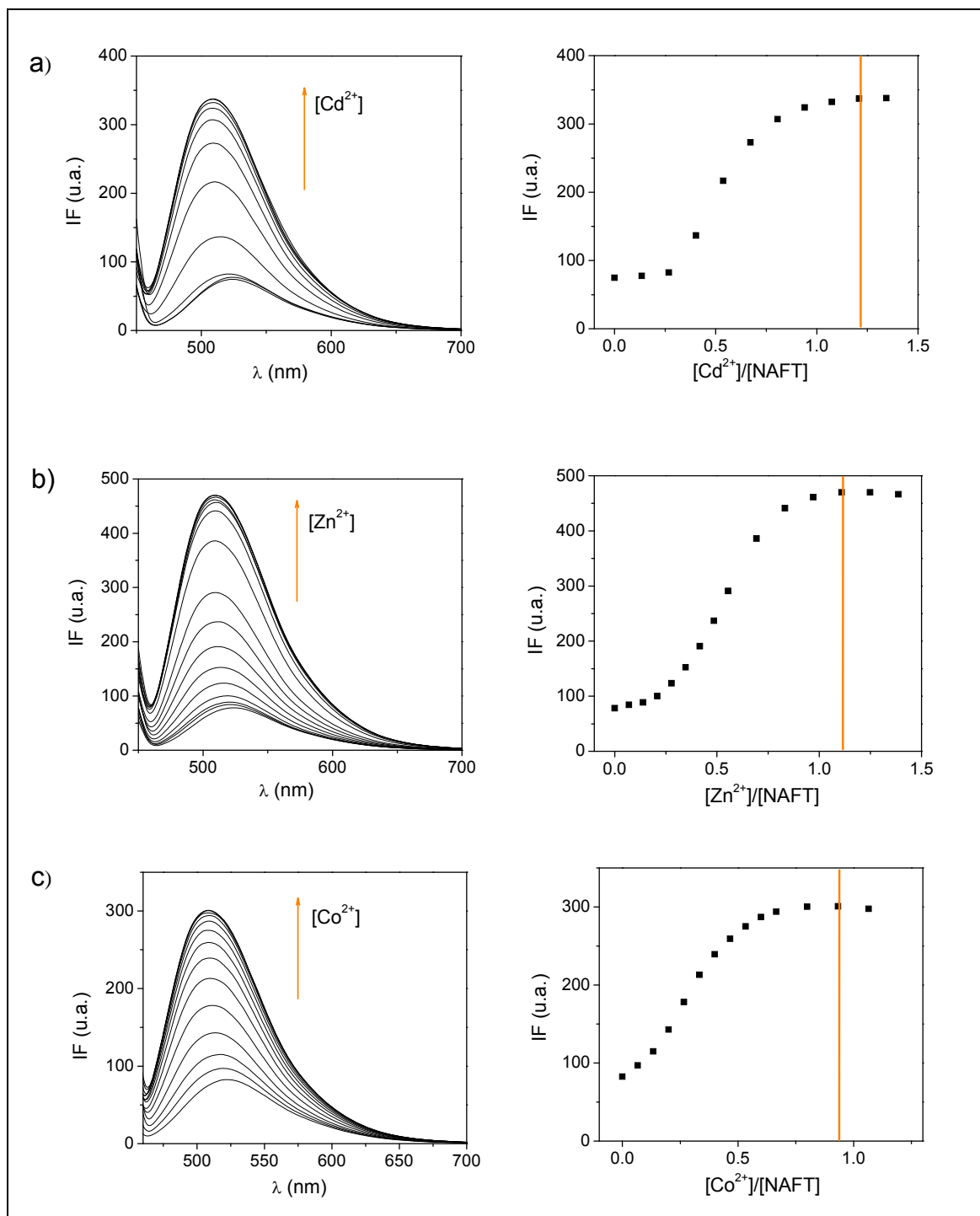


Figura 5.2. Factor de incremento de la fluorescencia (FE) de NAFTino en disolución de acetonitrilo, en presencia de diferentes cationes metálicos.

El incremento más bajo se obtuvo en presencia de plata (FE = 2.1), mientras que níquel y cobalto fueron los metales que mostraron un mayor valor de FE (7.2 y 6.5, respectivamente). Tanto los incrementos en la intensidad de fluorescencia del NAFTino como las concentraciones umbral de detección son similares a compuestos referibles en la bibliografía,² e indican la alta sensibilidad de la sonda a la presencia de metales catiónicos.

Siguiendo el mismo procedimiento, se evaluó la sensibilidad de P1000-NAFT para la detección de cationes metálicos en disolución. En la Figura 5.3 se muestra, a modo de ejemplo, la variación de la intensidad de emisión de fluorescencia de P1000-NAFT en función de la concentración de cationes Zn^{2+} , Co^{2+} y Fe^{3+} , hasta saturación del fluoróforo.

² Grabchev, I.; Dumas, S.; Chovelon, J.-M.; Nedelcheva, A., First generation poly(propyleneimine) dendrimers functionalised with 1,8-naphthalimide units as fluorescence sensors for metal cations and protons. *Tetrahedron* **2008**, 64 (9), 2113-2119.



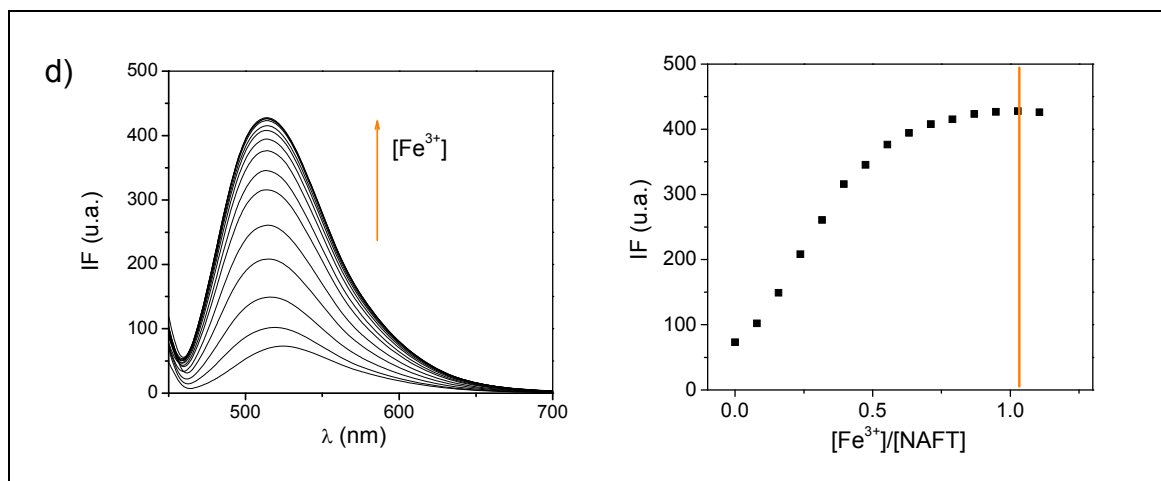


Figura 5.3. Variación de los espectros de emisión de fluorescencia de P1000-NAFT en disolución de acetonitrilo 10^{-6} M ($\lambda_{\text{ex}} = 433$ nm) durante la adición de alícuotas de las sales (a) $[\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$, (b) $[\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$, (c) $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ y (d) $[\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ en disolución de acetonitrilo 2×10^{-5} M.

En las representaciones de intensidad de fluorescencia frente a la relación de concentraciones catión/sonda (Figura 5.3 dcha) se observan diferentes concentraciones umbral de detección para los diferentes metales, siendo en todos los casos de 80 ppb. Los metales Cd y Zn presentaron una sensibilidad a bajas concentraciones de sales ligeramente menor que la de su homólogo NAFTino.

De estos gráficos se observa también que la sensibilidad del cromóforo se mantiene cuando está incluido en el esqueleto hiperramificado, ya que la saturación de la señal se produce para relaciones $[\text{cromóforo}]/[\text{metal}] = 1:1$, es decir, una molécula de P1000-NAFT es capaz de formar un complejo con seis cationes metálicos, tal y como corresponde con su estructura química con seis grupos cromóforos en su esqueleto.

En la Figura 5.4 se muestran los valores de FE según la naturaleza de los cationes metálicos. Los valores son significativamente altos especialmente para hierro y zinc, y demuestran una excelente sensibilidad de la sonda P1000-NAFT a la presencia de cationes metálicos en disolución, multiplicando su intensidad de fluorescencia por un factor de 6.

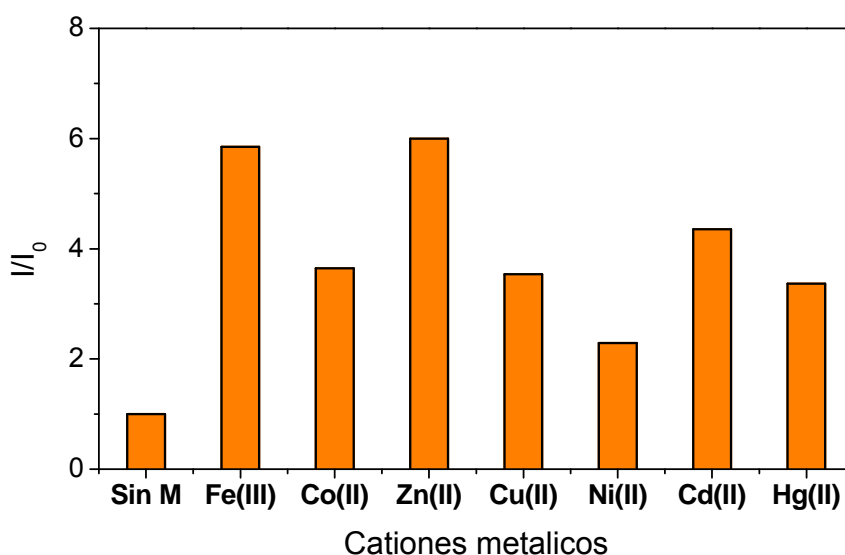


Figura 5.4. Factor de incremento de la fluorescencia (FE) de P1000-NAFT en disolución de acetonitrilo, en presencia de diferentes cationes metálicos.

A la vista de los resultados, tanto el cromóforo NAFTino como su homólogo hiperramificado P1000-NAFT presentan alta sensibilidad para la detección de cationes metálicos en disolución, así como muy baja concentración umbral de detección (80 ppb).

En cualquier caso, la reacción de coordinación metal/sonda es estequiométrica para ambos sensores, incluso cuando están incluidos en una estructura hiperramificada multicromofórica, por lo que la respuesta de fluorescencia de ambos se puede usar para la determinación cuantitativa de estos metales en disolución.

5.2. SENSIBILIDAD DE LAS SONDAS A ESPECIES ÁCIDAS (H^+) EN DISOLUCIÓN.

Se ha estudiado la respuesta de las sondas derivadas de naftalimida y acridina a la presencia de especies ácidas en disolución, para lo que se ha utilizado ácido trifluoroacético (TFA).

En las valoraciones ácido-cromóforo se emplearon disoluciones de las sondas en acetonitrilo, con una concentración del orden 10^{-6} M a las que se añadieron

sucesivas alícuotas de ácido en disolución de acetonitrilo 10^{-3} y 10^{-4} M, hasta alcanzar un valor máximo de emisión de fluorescencia constante.

El proceso se monitorizó para NAFTino y P1000-NAFT registrándose los espectros de emisión de fluorescencia para cada adición y eligiendo la longitud de onda de excitación como el máximo de absorción de las sondas en acetonitrilo ($\lambda_{\text{ex}} = 433$ nm). En la Figura 5.5 se muestra la variación en la IF de las sondas en función de la concentración de protones, hasta alcanzar un valor constante.

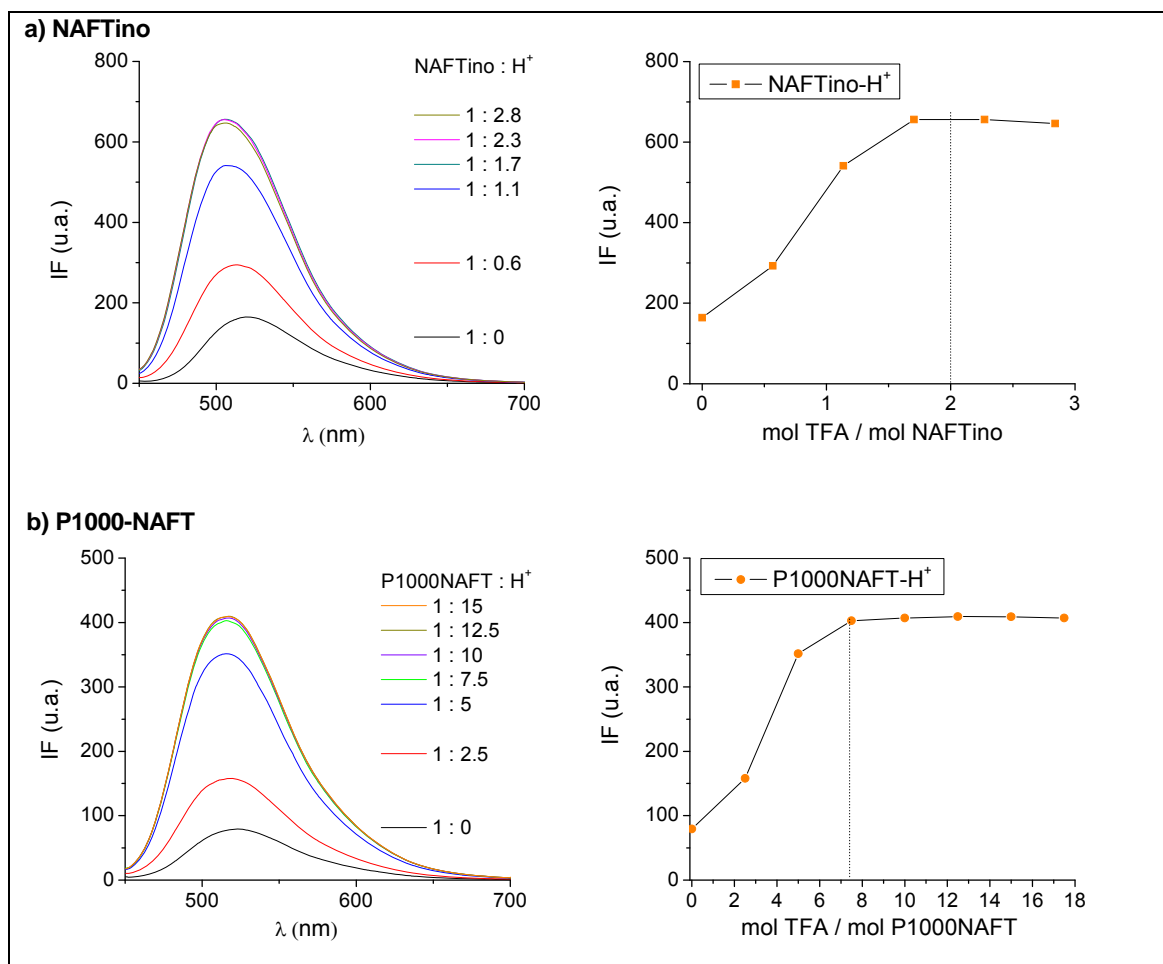
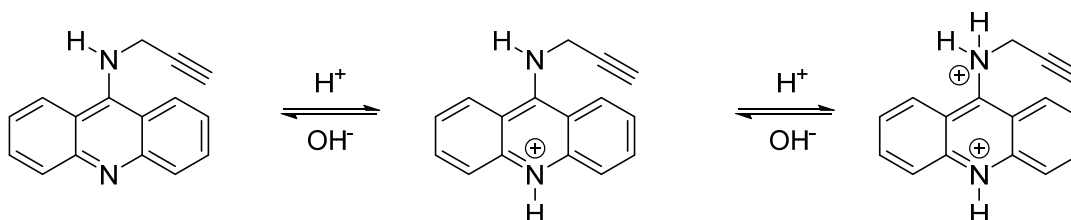


Figura 5.5. Variación de la banda de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 433$ nm) durante la adición de (a) TFA 10^{-4} M en acetonitrilo sobre NAFTino (4.4×10^{-6} M en acetonitrilo) y (b) TFA 10^{-3} M en acetonitrilo sobre P1000-NAFT (2×10^{-6} M en acetonitrilo).

El cromóforo NAFTino posee dos puntos protonables en su estructura y la adición de ácido produce la protonación de ambos átomos de nitrógeno, el distal y en C4.

Esto significa que cuando el cromóforo naftalimida está incluido en la estructura hiperramificada sólo se produce la protonación en el átomo de nitrógeno distal.

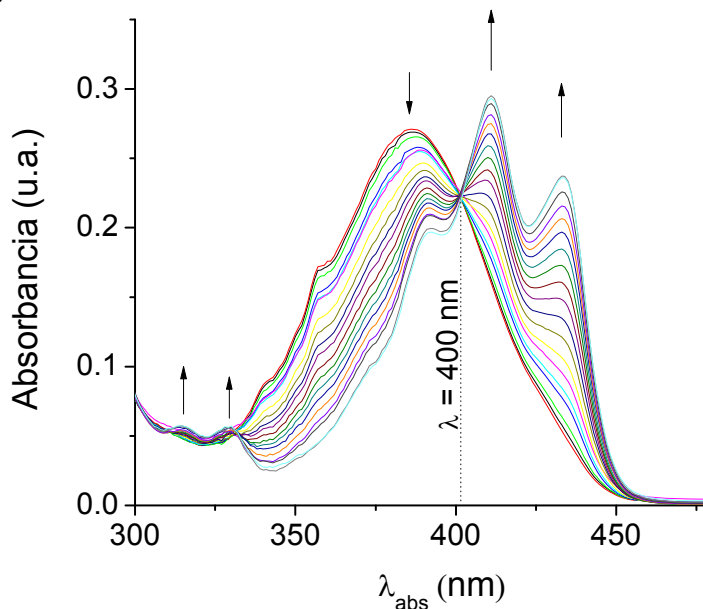
Este estudio se realizó también para las sondas derivadas de acridina, en las que tiene lugar un proceso de protonación de los dos nitrógenos presentes en su estructura (Esquema 5.3).



Esquema 5.3. Proceso de protonación del derivado de bajo peso molecular ACRIDino en presencia de especies ácidas en el medio.

Para estudiar el proceso, en primer lugar se han analizado las variaciones en las propiedades de absorción de las moléculas neutra y protonada en disolución de acetonitrilo con la adición de ácido (Figura 5.6).

a) ACRIDino



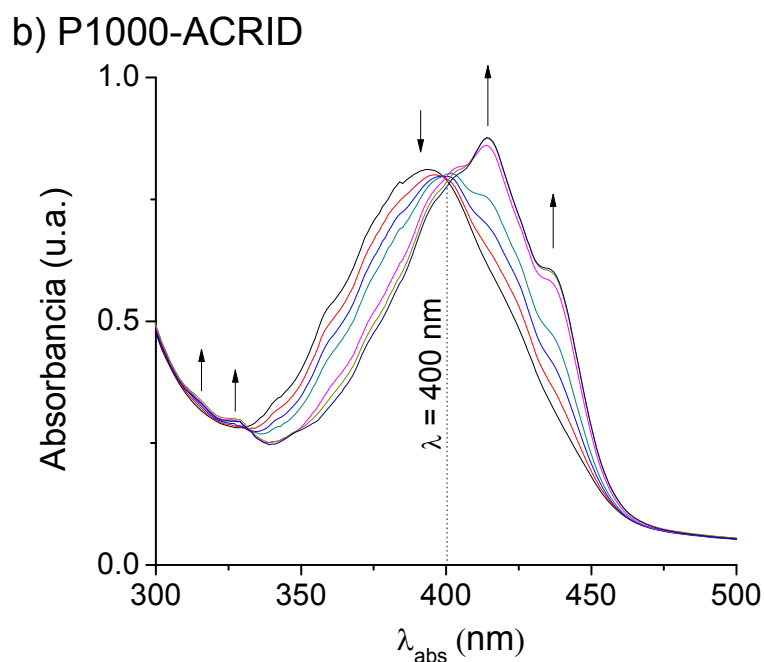


Figura 5.6. Variación de las bandas de absorción durante la adición de TFA a disoluciones de a) ACRIDino (3.55×10^{-5} M) y b) P1000-ACRID (8.52×10^{-6} M) en acetonitrilo.

Las sondas ACRID y P1000-ACRID presentan un comportamiento similar en la variación de las bandas de absorción. La especie neutra inicial presenta una única banda de absorción y, a medida que se añade ácido en el medio, se produce la desaparición de esta banda y la aparición de un espectro de absorción con tres máximos a $\lambda = 392$, 411 y 433 nm, correspondiente a las especies protonadas que se van formando.

Asimismo, se observa la aparición de un punto isobéptico a $\lambda_{\text{abs}} = 400$ nm, para ambos compuestos.

Los espectros de emisión de fluorescencia se registraron excitando en el punto isobéptico. En la Figura 5.7 se muestra la variación de la emisión de ACRIDino y P1000-ACRID en presencia de especies ácidas en el medio.

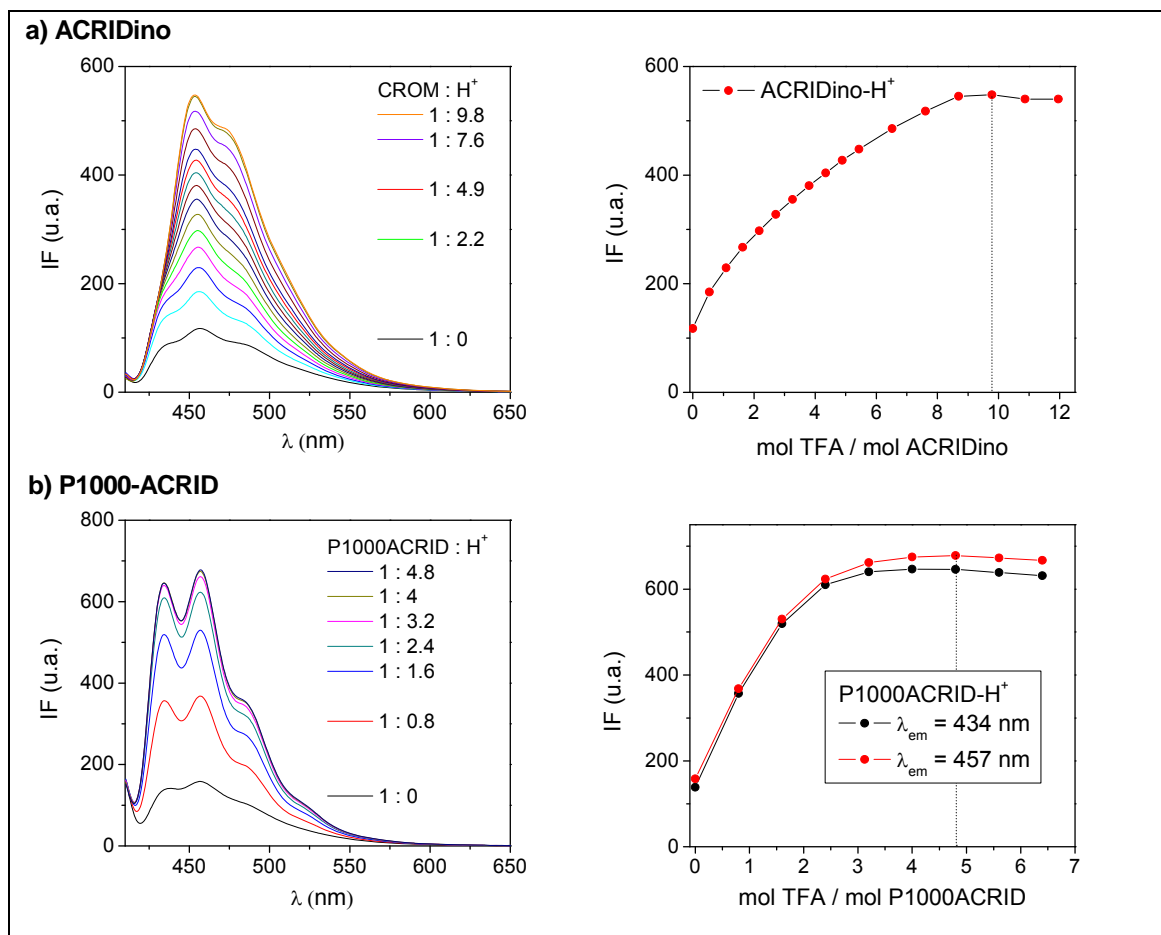


Figura 5.7. Variación de la banda de emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 400$ nm) durante la adición de TFA 10^{-3} M en acetonitrilo sobre (a) ACRIDino (2.3×10^{-5} M en acetonitrilo) y (b) P1000-ACRID (2.5×10^{-6} M en acetonitrilo).

Se observa un aumento de las bandas de emisión a medida que aumenta la concentración de ácido hasta alcanzar un valor constante. ACRIDino alcanza un *plateau* para la proporción CROM/H⁺ de 1:10 mientras que en el caso de P1000-ACRID es de 1:5.

Una vez alcanzado el *plateau*, a la disolución de P1000-ACRID se le añadieron unas gotas de TFA puro, observándose un paulatino incremento en la intensidad de fluorescencia con el tiempo, (aproximadamente un 30% de aumento de intensidad después de 1h), lo que indica que el cromóforo incluido en la estructura hiperramificada sólo se protona por segunda vez en condiciones fuertemente ácidas.

Este resultado concuerda con estudios realizados previamente en moléculas discretas derivadas de 9-aminoacridina, donde indican que este tipo de

estructuras sólo pueden protonarse por segunda vez si se emplea un medio fuertemente ácido.³

Además, para el caso de estas estructuras hiperramificadas hay que tener en cuenta las intensas repulsiones electrostáticas, dada la cantidad de centros susceptibles de protonación, dificultándose la doble protonación incluso utilizando un ácido fuerte como TFA.

Para obtener experimentalmente la relación estequiométrica en la que se produce la máxima protonación de la sonda, se utilizó el método de Job o método de la variación continua. Este método, originalmente descrito para medir actividad enzimática, está basado en medida de la respuesta del complejo cuya estequiometría se quiere determinar, empleando proporciones diferentes de sonda y ácido pero manteniendo constante la cantidad total de ambos.⁴

Se realizaron las medidas para ACRIDino y P1000-ACRID, y en la Figura 5.8 se representa la respuesta de fluorescencia frente a la fracción molar de cromóforo. La extrapolación de las dos rectas tangentes a la curva en 0 y 1 hasta la intersección de las mismas corresponde a una fracción de protón que da la estequiometría exacta del complejo (Figura 5.8).

³ (a) Rak, J.; Blahejowski, J., Theoretical studies on the prototropic tautomerism, structure, and features of acridine and 9-acridinamine free bases and their protonated forms. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57 (13), 3720-3725, (b) Rak, J.; Skurski, P.; Jozwiak, L.; Blahejowski, J., Theoretical Studies on the Effect of the Medium on Tautomeric Phenomena in Neutral and Protonated Acridin-9-amine. Mechanism of Tautomerization in Neutral Entities. *Australian Journal of Chemistry* **1997**, 50 (2), 97-108, (c) Wróblewska, A.; Meszko, J.; Krzyński, K.; Ebead, Y.; Blahejowski, J., Tautomerism of 9-acridinamines substituted at the exocyclic nitrogen atom in view of computational predictions and experimental findings. *Chemical Physics Letters* **2004**, 303 (3), 301-308.

⁴ Huang, C. Y., Determination of binding stoichiometry by the continuous variation method: the Job plot. *Methods in Enzymology* **1982**, 87, 509-525.

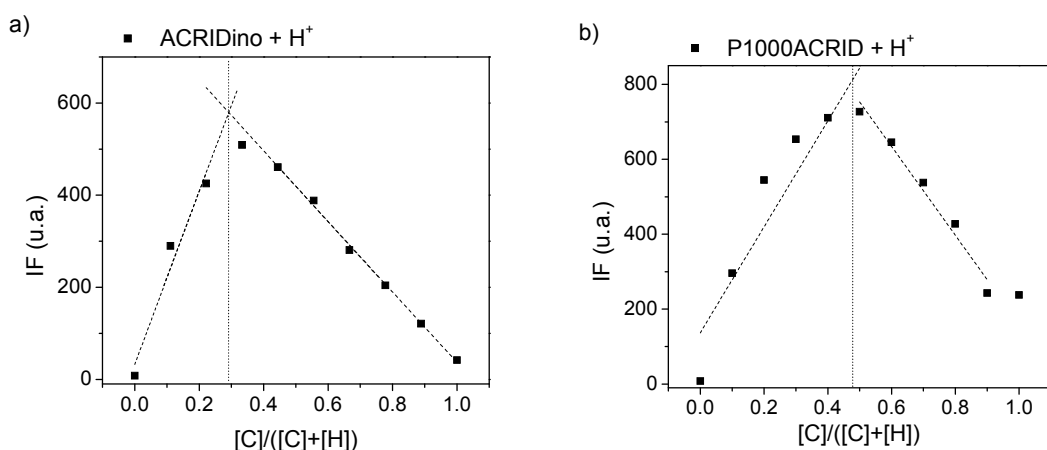


Figura 5.8. Diagrama de Job para los sensores (a) ACRIDino y (b) P1000-ACRID con TFA. La concentración total del sensor ($[C]$) y la de TFA ($[H]$) es $9 \cdot 10^{-5}$ M para ACRIDino+ H^+ y $1.12 \cdot 10^{-5}$ M para P1000-ACRID+ H^+ en acetonitrilo ($\lambda_{\text{ex}} = 400$ nm).

En el caso de ACRIDino, el punto de intersección se observa en la relación 0.33, por lo que cada cromóforo se compleja con 2 protones. Por otro lado, el vértice se observa en la relación es 0.5 para P1000-ACRID, obteniéndose una estequiometría 1:1. Esto confirma que cuando el cromóforo acridina está incluido en la estructura hiperramificada sólo se produce la monoprotonación.

Todas las sondas estudiadas resultaron ser sensores positivos de acidez, por lo que se utilizaron para determinar cambios de pH en disolución acuosa.

Para ello, se utilizaron disoluciones de tampón fosfato y disoluciones de NaOH o HCl 0.1M, con pH comprendidos entre 1 y 13, cuidadosamente controlados antes y después de llevar a cabo las medidas. Las disoluciones de sonda se prepararon en una concentración de 10^{-6} M.

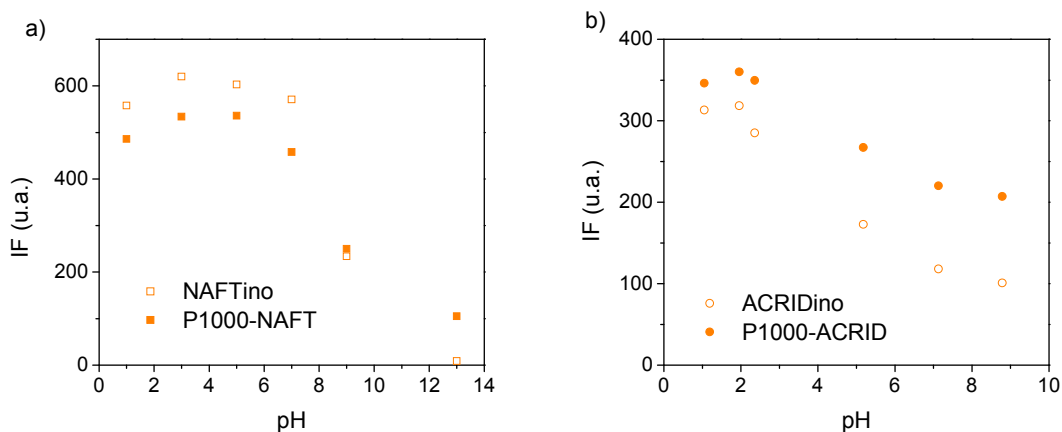


Figura 5.9. Dependencia de la intensidad de fluorescencia con el pH para las sondas (a) NAFTino y P1000-NAFT ($\lambda_{\text{ex}} = 433 \text{ nm}$) y (b) ACRIDino y P1000-ACRID ($\lambda_{\text{ex}} = 400 \text{ nm}$), a temperatura ambiente.

En la Figura 5.9 se observa la variación de la fluorescencia de los sensores NAFTino y P1000-NAFT al pH en el intervalo de 6 a 13, y de los sensores ACRIDino y P1000-ACRID en el intervalo de 2.4 a 9.

La intensidad de fluorescencia (IF) en el máximo de emisión varía con el pH de forma sigmoideal y satisface la ley de acción de masas tipo Henderson-Hasselbalch (Ecuación 5.1), donde K_a es la constante de disociación ácida o constante de acidez.⁵

$$\log \frac{IF_{\text{max}} - IF}{IF - IF_{\text{min}}} = \text{pH} - \text{p}K_a \quad \text{Ecuación 5.1}$$

Los cambios en la intensidad de fluorescencia en función del pH se analizaron con la Ecuación 5.1.

El sensor NAFTino presentó un valor de $\text{p}K_a$ de 8.1 y el sensor P1000-NAFT de 8.7, valores que están en concordancia con los descritos para cromóforos similares.⁶

El sensor ACRIDino presentó un valor de $\text{p}K_a$ de 4.9 y el sensor P1000-ACRID de 5.0.

Todas las sondas estudiadas han resultado ser sensibles a la presencia de especies ácidas en disolución y se pueden utilizar además para la determinación del pH en un rango amplio de respuesta a través de la variación de sus propiedades espectroscópicas.

⁵ Bissell, R. A.; Silva, A. P. d.; Gunaratne, H. Q. N.; Lynch, P. L. M.; Maguire, G. E. M.; Sandanayake, K. R. A. S., Molecular fluorescent signalling with 'fluor-spacer-receptor' systems: approaches to sensing and switching devices via supramolecular photophysics. *Chemical Society Reviews* **1992**, 21 (3), 187-195.

⁶ Grabchev, I.; Qian, X.; Xiao, Y.; Zhang, R., Novel heterogeneous PET fluorescent sensors selective for transition metal ions or protons: polymers regularly labelled with naphthalimide. *New Journal of Chemistry* **2002**, 26 (7), 920-925.

Ambos cromóforos (NAFTino y ACRIDino) contienen dos centros protonables en su estructura, por lo que las estructuras de bajo peso molecular muestran sensibilidad a la presencia de TFA hasta estequiometría 1:2. Sin embargo, los correspondientes polímeros hiperramificados sólo son capaces de protonarse en una posición (N en C4 para P1000-NAFT y N heterocíclico en P1000-ACRID), dadas las repulsiones electrostáticas que se producen en la molécula.

CAPÍTULO 6

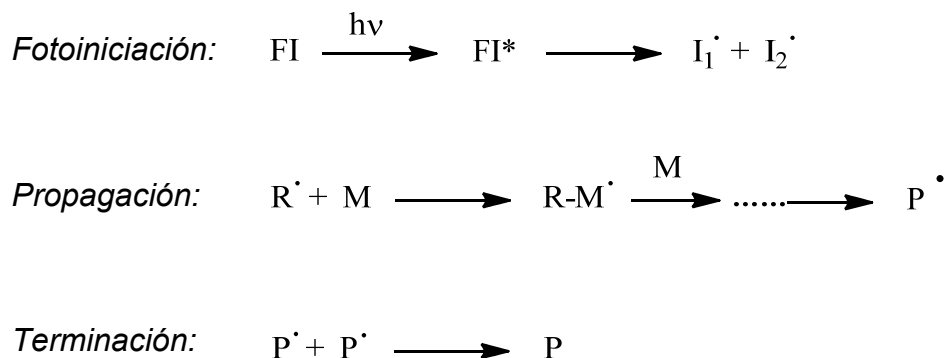
**REACCIONES DE FOTOPOLIMERIZACIÓN DE
MONÓMEROS ACRÍLICOS. ESTUDIO Y SEGUIMIENTO
DEL PROCESO MEDIANTE FLUORESCENCIA Y
CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO**

6. REACCIONES DE FOTOPOLIMERIZACIÓN DE MONÓMEROS ACRÍLICOS. ESTUDIO Y SEGUIMIENTO DEL PROCESO MEDIANTE FLUORESCENCIA Y CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO.

6.1. INTRODUCCIÓN.

La reacción de fotopolimerización de monómeros acrílicos es un proceso de polimerización, en cadena y por vía radical, en el que la generación de radicales viene iniciada por irradiación. Al no necesitar activación térmica, es un proceso independiente de la temperatura, por lo que se puede llevar a cabo a temperaturas bajas como la ambiente.

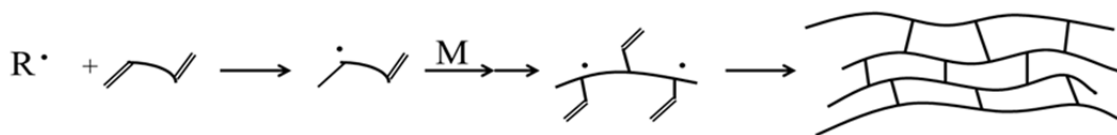
En la iniciación, el fotoiniciador (FI) presente en el medio absorbe luz, creándose un estado excitado (FI*) y esta excitación se resuelve mediante la rotura de enlaces y formación de radicales primarios (R•). Los radicales formados reaccionan con sucesivas moléculas de monómero (M), generando macrorradicales (R-M• o P•) cuyo crecimiento termina mediante reacciones de combinación o desproporción en la etapa final de polimerización,¹ dando lugar a cadenas de polímero terminadas (P), tal y como se resume de manera muy general en el Esquema 6.1:



Esquema 6.1. Mecanismo de fotopolimerización radical para un monómero monofuncional.

¹ (a) Bevington, J. C.; Melville, H. W.; Taylor, R. P., The termination reaction in radical polymerizations. Polymerizations of methyl methacrylate and styrene at 25°. *Journal of Polymer Science* **1954**, 12 (1), 449-459, (b) Odian, G., *Principles of Polymerization*. 4th ed.; John Wiley & Sons: New Jersey, **2004**; p 264.

Cuando el monómero es multifuncional, se obtiene un polímero de estructura tridimensional, donde las cadenas están unidas unas a otras por enlaces laterales, formando una red polimérica entrecruzada, como se muestra en el Esquema 6.2.



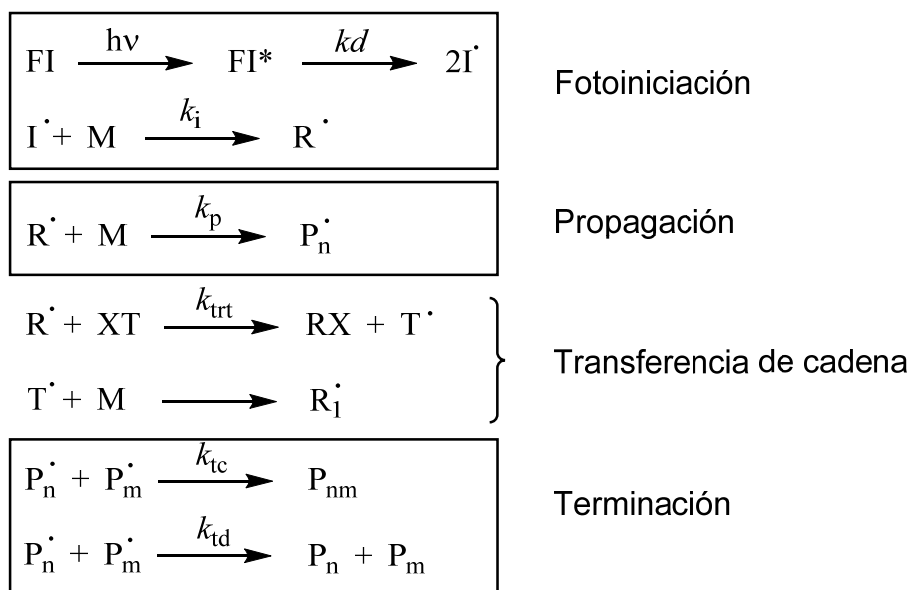
Esquema 6.2. Representación general para una reacción de polimerización radical de un monómero difuncional.

6.2. CINÉTICA DE LA REACCIÓN DE POLIMERIZACIÓN RADICAL FOTOINICIADA.

De acuerdo al Esquema 6.1 se pueden considerar tres etapas básicas: iniciación, propagación y terminación, a las cuales hay que sumar la posibilidad de la reacción de transferencia de cadena. En este caso, la cadena en crecimiento se desactiva generalmente mediante la captura de un hidrógeno, formando una cadena inerte de polímero y generando un radical activo que continúa adicionando nuevas moléculas de monómero para dar lugar a una nueva cadena activa en crecimiento.

A partir del mecanismo de la fotopolimerización radical fotoiniciada (Esquema 6.3) y la constante cinética asociada a cada etapa, se puede establecer la cinética ideal del proceso.²

² *Ciencia y Tecnología de Materiales Poliméricos*. Madrid, **2004**; Vol. I, p 682.



Esquema 6.3. Mecanismo de la polimerización radical fotoiniciada.

Las hipótesis que se asumen a la hora de desarrollar las expresiones ideales son las siguientes:

- Todas las reacciones son irreversibles (se considera que no existe despropagación).
- Las cadenas son lo suficientemente largas como para considerar que todo el monómero se consume en la etapa de propagación, despreciándose el consumo en la iniciación. Según esto, la velocidad de polimerización (R_p) vendrá dada por la velocidad de propagación:

$$\frac{-d[M]}{dt} = R_i + R_p \approx R_p \quad \text{Ecuación 6.1}$$

- Todos los macrorradicales presentan la misma reactividad, de forma que las constantes de propagación y terminación son independientes de la longitud del macrorradical (P^\cdot) y de su peso molecular.

$$\frac{-d[M]}{dt} = R_p = k_p [P^\cdot][M] \quad \text{Ecuación 6.2}$$

- Suposición del estado estacionario. La concentración de radicales aumenta al inicio de la reacción, pero después se considera constante durante toda la reacción, siendo iguales las velocidades de iniciación y

terminación, de forma que el número de radicales que se crean es igual al número de radicales que se destruyen.

$$R_i = R_t = k_t [P \cdot]^2 \quad \text{Ecuación 6.3}$$

- Los radicales primarios no participan en las etapas de terminación, que es sólo debida a la desactivación mutua de dos macrorradicales.

Despejando $[P \cdot]$ de la Ecuación 6.3 y sustituyéndolo en la Ecuación 6.2 se llega a,

$$R_p = \frac{k_p}{(k_t)^{1/2}} [M] R_i^{1/2} \quad \text{Ecuación 6.4}$$

La velocidad de iniciación en la iniciación fotoquímica se define como,

$$R_i = \Phi_i I_a \quad \text{Ecuación 6.5}$$

donde I_a es la intensidad de luz absorbida y Φ el rendimiento cuántico de iniciación, que se define como el número medio de cadenas de polímero iniciadas por fotón absorbido. La intensidad de luz absorbida viene dada por la ley de Lambert-Beer:

$$I_a = I_0 (1 - 10^{-\varepsilon [FI] l}) \quad \text{Ecuación 6.6}$$

donde ε es el coeficiente de absorción molar del cromóforo a la longitud de onda de irradiación, $[FI]$ la concentración de fotoiniciador, l la longitud de paso óptico e I_0 , la intensidad de luz incidente.

Sustituyendo las Ecuaciones 7.5 y 7.6 en la Ecuación 6.4, se llega a la expresión ideal para la velocidad de polimerización radical fotoiniciada:

$$R_p = \frac{k_p}{(k_t)^{1/2}} [M] [\Phi_i I_0 (1 - 10^{-\varepsilon [FI] l})]^{1/2}$$

que en condiciones de alta absorción de luz ($I_a \approx I_0$) se convierte en:

$$R_p = \frac{k_p}{(k_t)^{1/2}} [M] (\Phi_i I_0)^{1/2} \quad \text{Ecuación 6.7}$$

6.3. FOTOPOLIMERIZACIÓN DE MONÓMEROS METACRÍLIOS.

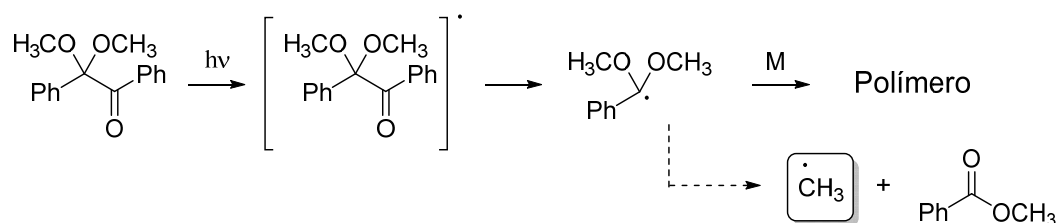
Uno de los objetivos del presente Trabajo se centra en relacionar los cambios de emisión de fluorescencia de las sondas seleccionadas con la cinética de la reacción de polimerización.

Se ha llevado a cabo el estudio de la fotopolimerización de monómeros metacrílicos, en presencia de sonda fluorescente en muy baja concentración. La reacción se ha seguido simultáneamente mediante espectroscopia de fluorescencia y calorimetría diferencial de barrido, como se describe en la Parte Experimental (**Apartado 3.2.11**). Para este estudio se han seleccionado monómeros de bajo peso molecular dimetacrilato de 1,6-hexanodiol (HDDMA), 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), dimetacrilato de dietilenglicol (DEGDMA) y dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA), así como un oligómero de etilenglicol (dimetacrilato de polietilenglicol 550, PEGDMA).

Se ha seguido la reacción de fotopolimerización estudiando el comportamiento de cuatro sondas, dos de ellas monocromofóricas (DANSino y ModDANS) y dos poliméricas funcionalizadas con diferente número de grupos dansilo (P1000-DANS y H20-DANS).

Se ha utilizado un fotoiniciador comercial *Tipo I* de fragmentación: 2,2'-dimetoxi-2-fenilacetofenona (*Irgacure 651®*), que bajo irradiación genera los radicales primarios capaces de iniciar la reacción de polimerización. El mecanismo de fotofragmentación y generación de radicales de este fotoiniciador ha sido ampliamente estudiado y se muestra en el Esquema 6.4.³

³ (a) Pappas, S. P.; Chattopadhyay, A., Photochemistry of benzoin ethers. Type I cleavage by low energy sensitization. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, *95*, 6484-6485, (b) Carlblom, L. H.; Pappas, S. P., Photoinitiated Polymerization of Methyl Methacrylate and Methyl Acrylate with ¹⁴C-Labeled Benzoin Methyl Ethers. *Journal of Polymer Science Polymer Chemistry Edition* **1977**, *15*, 1381-1391, (c) Fouassier, J.-P.; Merlin, A., Laser investigation of norrish type I photoscission in the photoinitiator irgacure (2,2-dimethoxy 2-phenyl-acetophenone). *Journal of Photochemistry* **1980**, *12* (1), 17-23.



Esquema 6.4. Mecanismo de fotofragmentación del iniciador comercial *Irgacure 651*®.

La técnica de foto-DSC se emplea de manera habitual para el seguimiento de las reacciones de fotopolimerización en ausencia de disolvente y el estudio de sus cinéticas.⁴ Acoplado una fuente de irradiación UV a un DSC convencional se puede irradiar la muestra a la vez que se registra en tiempo real la energía asociada a este proceso. En el estudio de las cinéticas de polimerización, el calor producido en la reacción se puede relacionar en cada momento con la conversión del monómero en polímero, obteniendo así curvas conversión-tiempo.

Asimismo, y debido a su alta sensibilidad y a sus tiempos de respuesta cortos ($\tau_F < 10^{-6}$ s), la fluorescencia es una técnica muy apropiada para evaluar *in situ* cambios en tiempo real durante cualquier proceso. Fue Loufty⁵ quien utilizó por primera vez la técnica de la fluorescencia para el seguir el progreso *in situ* de polimerizaciones de metacrilatos y desde entonces, el seguimiento de reacciones de polimerización utilizando sondas fluorescentes ha sido tema de numerosas investigaciones. Empleando sondas cuya emisión de fluorescencia sea sensible a la viscosidad del microentorno, el aumento de viscosidad que se produce durante la reacción de polimerización se puede relacionar con cambios

⁴ (a) Li, L.; Lee, L. J., Photopolymerization of HEMA/DEGDMA hydrogels in solution. *Polymer Chemistry* **2005**, *46* (25), 11540-11547, (b) Pedrón, S.; Bosch, P.; Peinado, C., Using hyperbranched macromers as crosslinkers of methacrylic networks prepared by photopolymerization. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2008**, *200* (2–3), 126-140.

⁵ (a) Loufty, R. O., High-conversion polymerization of fluorescence probes. 1. Polymerization of methyl methacrylate. *Macromolecules* **1981**, *14* (2), 270-275, (b) Loufty, R. O., Fluorescence Probes for Polymerization Reactions: Bulk Polymerization of Styrene, n-Butyl Methacrylate, Ethyl Methacrylate, and Ethyl Acrylate. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* **1982**, *20* (5), 825-835.

en los rendimientos de fluorescencia,⁶ la polarización,⁷ el coeficiente de difusión⁸ o las velocidades de polimerización⁹.

Como se ha explicado en el **Capítulo 1**, los rotores moleculares presentan una fluorescencia dependiente de su relajación rotacional, por lo que a medida que aumenten las restricciones de movilidad en torno a la sonda se reducirá el proceso de relajación no radiativa y aumentará la emisión de fluorescencia. Asimismo, la variación de la diferencia de energía entre los estados fundamental y excitado dará lugar a longitudes de emisión más cortas.¹⁰

Para describir los cambios en la emisión durante la reacción de fotopolimerización se han elegido tres parámetros de fluorescencia diferentes: la longitud de onda en el máximo de emisión ($\lambda_{em\ max}$), la razón de intensidades a dos longitudes de onda diferentes (I_{F2}/I_{F1}) y la medida del primer momento de la fluorescencia ($\langle \bar{\nu} \rangle$),

$$\langle \bar{\nu} \rangle = \frac{\sum IF(\tilde{\nu})\tilde{\nu}}{\sum IF(\tilde{\nu})} \quad \text{Ecuación 6.8}$$

siendo $IF(\tilde{\nu})$ la intensidad de emisión a un determinado número de onda y $\tilde{\nu}$, el inverso de la longitud de onda ($1/\lambda$) en cm^{-1} .

⁶ Ramesdonk, H. J. v.; Vos, M.; Verhoeven, J. W.; Möhlmann, G. R.; Tissink, N. A.; Meesen, A. W., Intramolecular charge-transfer fluorescence as a mobility probe in poly(methylmethacrylate). *Polymer* **1987**, 28 (6), 951-956.

⁷ Scarlata, S. F.; Ors, J. A., Fluorescence polarization: a method to monitor polymer cure. *Polymer Communications* **1986**, 27 (2), 41-42.

⁸ Wang, F. W.; Wu, E. S., Cure monitoring of epoxy resins by fluorescence recovery after photobleaching. *Polymer Communications* **1987**, 28 (3), 73-75.

⁹ Valdes-Aguilera, O.; Pathak, C. P.; Neckers, D. C., Pyrene as a fluorescent probe for monitoring polymerization rates. *Macromolecules* **1990**, 23 (2), 689-692.

¹⁰ (a) Jager, W. F.; Volkers, A. A.; Neckers, D. C., Solvatochromic Fluorescent Probes for Monitoring the Photopolymerization of Dimethacrylates. *Ibid.* **1995**, 28 (24), 8153-8158, (b) Uzhinov, B. M.; Ivanov, V. L.; Melnikov, M. Y., Molecular rotors as luminescence sensors of local viscosity and viscous flow in solutions and organized systems. *Russian Chemical Reviews* **2011**, 80 (12), 1179-1190.

En los siguientes apartados se detallan los resultados obtenidos en el estudio de reacciones de fotopolimerización y se evalúa la capacidad de las sondas para actuar como sensores fluorescentes en dichas reacciones a lo largo de todo el intervalo de conversiones.

Se han estudiado dos reacciones de polimerización diferentes: la reacción de copolimerización entre un monómero metacrílico difuncional y uno monofuncional, así como las homopolimerizaciones de dimetacrilatos en los que varía la longitud de unidades espaciadoras de etilenglicol.

Previamente se comprobó que la presencia de la sonda en las formulaciones no afectaba a la cinética de las mismas, lo cual era de esperar dada su baja concentración (2×10^{-6} M). Por tanto, para la obtención de los parámetros cinéticos en el DSC se ha realizado en todos los casos la media aritmética entre los resultados de la calorimetría para los experimentos con las tres sondas, considerando las desviaciones estándar en cada caso. Las diferencias observadas, en función de la sonda y el experimento realizado, se encuentran en el margen del error experimental.

6.3.1. Copolimerización de monómeros mono- y difuncionales.

Se ha estudiado la reacción de copolimerización en bloque del monómero difuncional HDDMA y el monofuncional HEMA en diferentes proporciones. Las estructuras de éstos monómeros se muestran en la Figura 6.1.

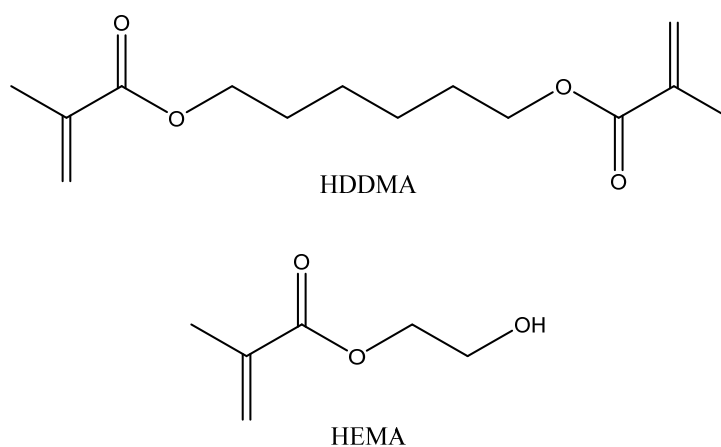


Figura 6.1. Estructura de los monómeros metacrílicos polimerizados.

A modo de ejemplo, en la Figura 6.2.a se muestra el perfil entálpico obtenido frente al tiempo de irradiación para cada una de las formulaciones; y en la Figura 6.2.b se muestran los perfiles cinéticos conversión-tiempo para todas las formulaciones estudiadas.

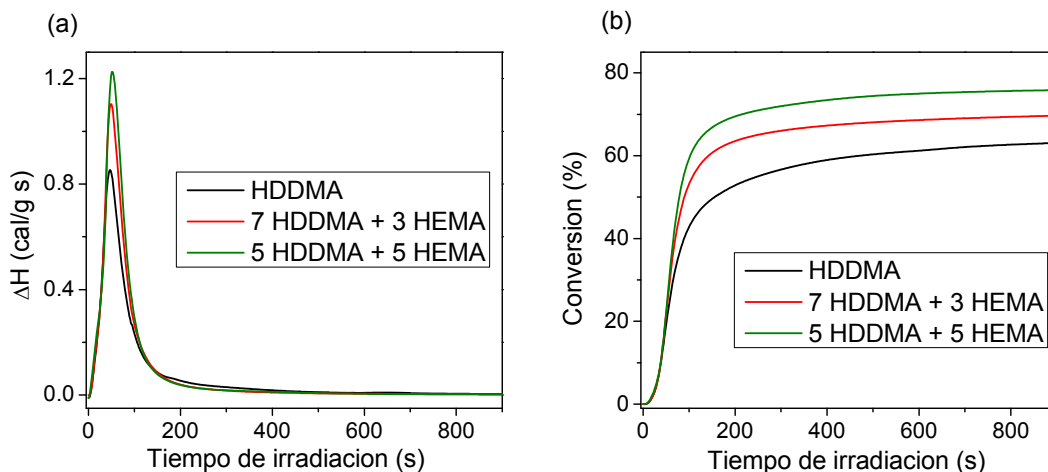


Figura 6.2. (a) Perfil entálpico obtenido en las copolimerizaciones de HDDMA y HEMA fotoiniciada por *Irgacure 651*® (1% en peso) en presencia de la sonda ModDANS ($I_0 = 1 \text{ mW/cm}^2$). (b) Perfil cinético de las reacciones a lo largo del tiempo de irradiación.

El perfil cinético de las fotopolimerizaciones estudiadas es el convencional, mostrando un ligero retardo inicial en los 30 primeros segundos de irradiación. Las conversiones alcanzadas son siempre inferiores al 100%, como corresponde a la polimerización de monómeros multifuncionales, ya que la formación de la red tridimensional densamente entrecruzada impide la conversión total de grupos funcionales. Además, a medida que aumenta la proporción de monómero HEMA aumenta la conversión máxima alcanzada, desde un 60% para la homopolimerización del HDDMA y hasta el 76% para la copolimerización de HDDMA/HEMA (5:5).

En la Figura 6.3 se representa la variación de la velocidad de polimerización frente a la conversión en cada momento, para las 3 formulaciones estudiadas.

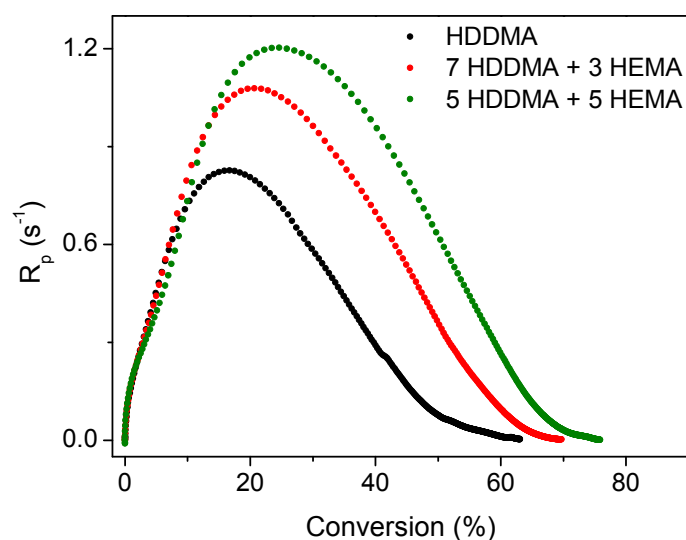


Figura 6.3. Representación de la velocidad de la reacción frente a la evolución de la conversión.

Se observa un periodo de autoaceleración en el que la velocidad aumenta rápidamente hasta conversiones del 17-25%, aumentando la velocidad máxima y la conversión a la que esta se alcanza a medida que aumenta la cantidad de monómero monofuncional.

En la Tabla 6.1 se muestran los datos cinéticos de las reacciones. La *velocidad inicial de polimerización* (R_p), se ha calculado a bajas conversiones en el tramo lineal de la curva conversión-tiempo; la conversión *final* (α_{final}), se ha tomado como el último punto de la curva conversión-tiempo; la *velocidad de polimerización máxima* ($R_{p\ max}$) y la *conversión alcanzada en el máximo de la velocidad de polimerización* (α_{max}), se han obtenido de la curva R_p -conversión.

Tabla 6.1. Datos cinéticos de la fotopolimerización en bloque de HDDMA/HEMA fotoiniciada con *Irgacure 651®* (1% en peso) bajo atmósfera de N₂ a 30 °C, I₀ = 1 mW/cm².

Composición monómeros		Datos cinéticos			
HDDMA	HEMA	R _p (mol/L·s)	α _{final} (%)	R _{p max} (s ⁻¹)	α _{max} (%)
10	0	0.84 ± 0.03	61.9 ± 2.6	0.89 ± 0.05	17.1 ± 0.4
7	3	1.04 ± 0.07	68.7 ± 2.2	1.07 ± 0.04	19.7 ± 0.6
5	5	1.16 ± 0.03	73.5 ± 2.3	1.18 ± 0.02	23.1 ± 0.4

El comportamiento es el esperado, con un aumento de la R_p a medida que aumenta la proporción del monómero monofuncional HEMA, ya que el sistema es más flexible y con menor densidad de entrecruzamiento.

Se han estudiado simultáneamente los cambios en el espectro de fluorescencia de las sondas derivadas de dansilo (ModDANS, P1000-DANS y H2O-DANS) durante la fotopolimerización de estos monómeros. En la Figura 6.4 se muestra la evolución de la emisión de fluorescencia de la sonda P1000-DANS con el tiempo de reacción, durante la homopolimerización de HDDMA.

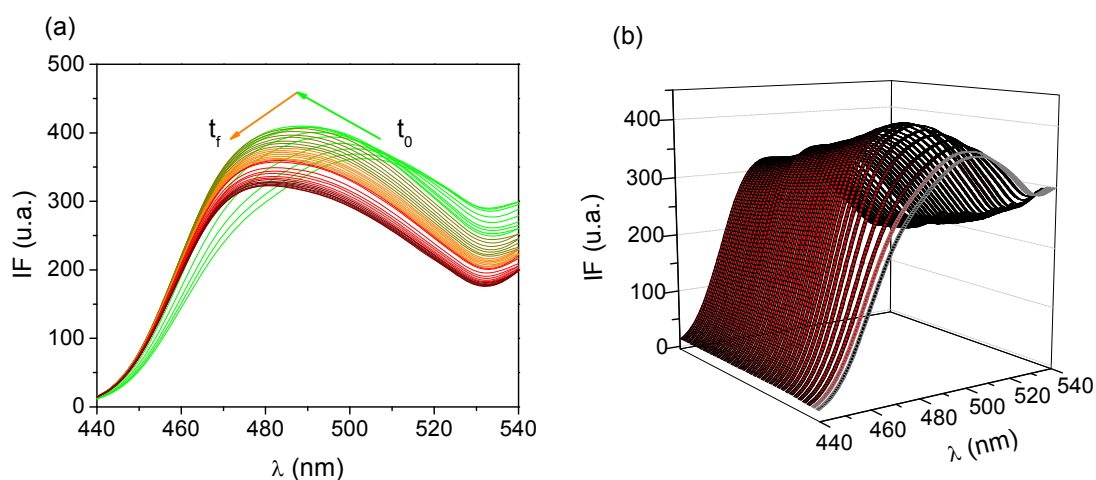


Figura 6.4. Evolución del espectro de emisión de fluorescencia del P1000-DANS ($\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm) durante la fotopolimerización del HDDMA, representada en (a) dos y (b) tres dimensiones.

El comportamiento observado es el mismo para todas las sondas, con cambios acusados en el espectro de emisión durante la polimerización, tanto en la

intensidad de fluorescencia, como en la posición y forma de la banda. Todas las curvas presentan un máximo inicial de la banda de emisión en torno a los 510 nm. Durante la reacción, la longitud de onda del máximo de emisión se desplaza hipsocrómicamente hasta un valor de 480 nm. Este desplazamiento a mayores energías cuando varía la rigidez del medio se denomina *rigidocromismo*,¹¹ y está cuantitativamente relacionado con los cambios en el mecanismo de relajación que se producen por el aumento de la rigidez en el microentorno de la sonda. Inicialmente la banda experimenta un aumento de intensidad, disminuyendo posteriormente al tiempo que se produce un ensanchamiento de la banda. Este ensanchamiento de la banda está asociado a los diferentes entornos que se producen en una polimerización entrecruzante, reflejando las microheterogeneidades de la red.

Los cambios en la banda de emisión de fluorescencia se han analizado empleando el primer momento de la fluorescencia ($\langle \bar{\nu} \rangle$), la posición del máximo de emisión ($\lambda_{em\ max}$) y la razón de intensidades a dos longitudes de onda (I_{F2}/I_{F1}).

El uso de la relación de intensidades a dos longitudes de onda es especialmente útil cuando se trabaja con sondas solvatocrómicas, ya que la banda de emisión se desplaza y al mismo tiempo varía en intensidad, por lo que la modificación global de la fluorescencia se describe mejor. Además, esta medida de fluorescencia es absoluta, lo que permite la reproducibilidad de la medida de intensidad en diferentes muestras. La elección de las dos longitudes de onda para la medida depende del sistema y del proceso bajo estudio. Según el criterio definido por Neckers y col.¹² se han elegido: λ_1 como la longitud de onda más larga a la altura media de la banda al inicio de la polimerización, y λ_2 como la correspondiente al máximo del espectro de emisión al final de la

¹¹ Lees, A. J., The Luminescence Rigidochromic Effect Exhibited by Organometallic Complexes: Rationale and Applications. *Comments on Inorganic Chemistry* **1995**, 17 (6), 319-346.

¹² Popielarz, R.; Hu, S.; Neckers, D. C., Applicability of decahydroacridine-1,8-dione derivatives as fluorescent probes for monitoring of polymerization processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1997**, 110 (1), 79-83.

polimerización. Este criterio es empírico, pero se ha visto que describe adecuadamente los cambios en la fluorescencia cuando se producen simultáneamente variaciones en la posición, forma e intensidad de la banda.

En las Figuras 6.5, 6.6 y 6.7 se muestra, a modo de ejemplo, la variación de estos parámetros y del grado de conversión frente al tiempo de irradiación para cada una de las sondas seleccionadas.

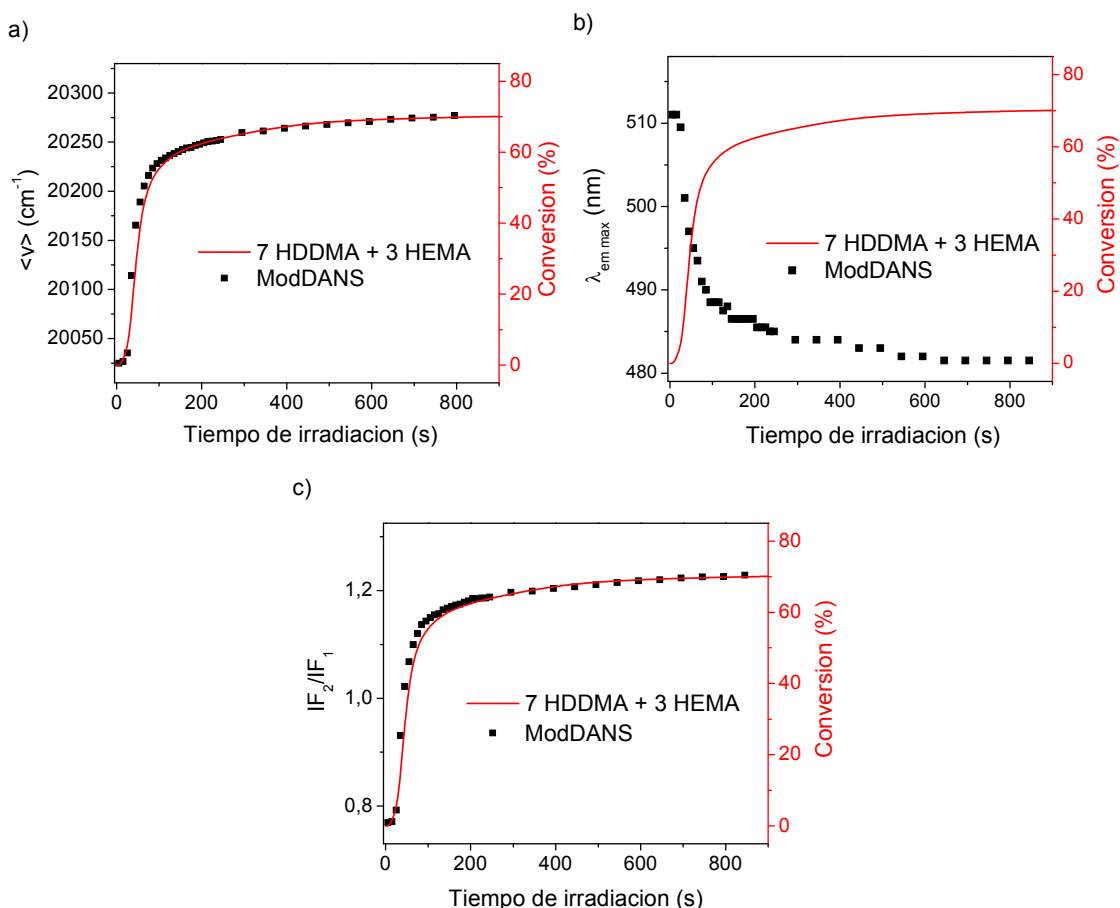


Figura 6.5. Representación de (a) el primer momento de la fluorescencia y la conversión de la reacción, (b) la longitud de onda del máximo de emisión y la conversión, (c) la relación de intensidades de fluorescencia ($\lambda_{em} (1) = 510$ nm, $\lambda_{em} (2) = 480$ nm) y la conversión frente al tiempo en presencia de la sonda ModDANS para la formulación HDDMA/HEMA (7:3).

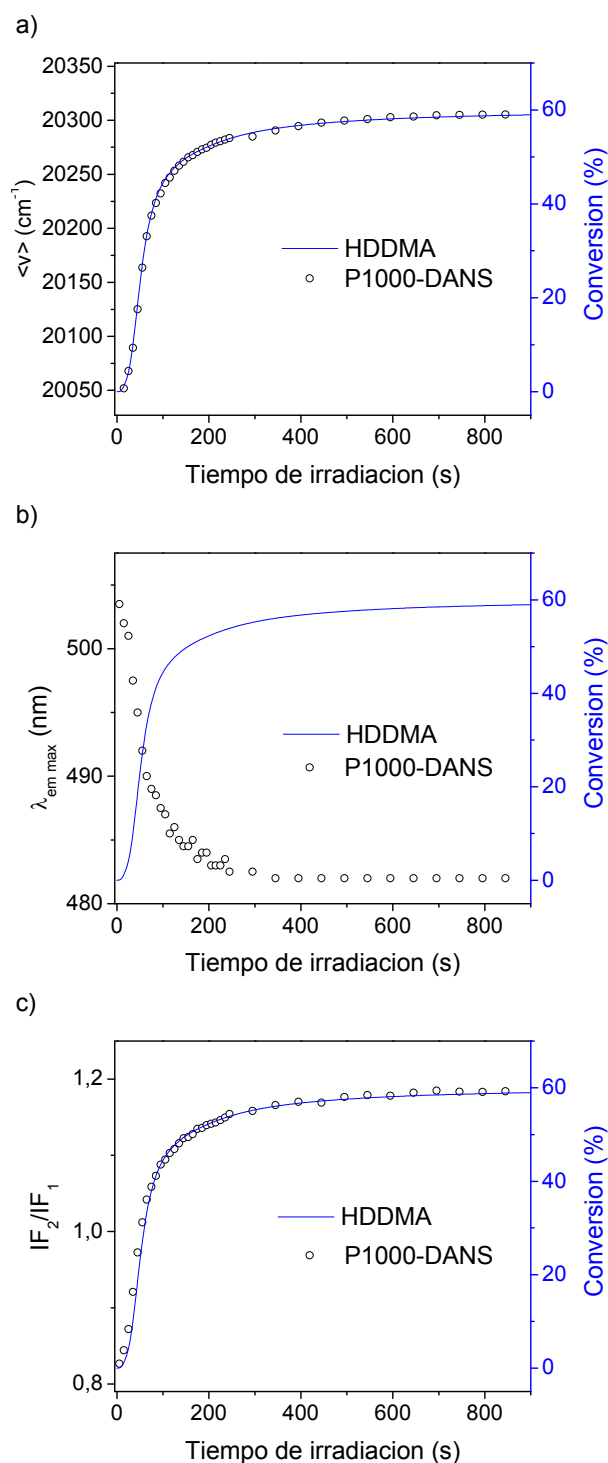


Figura 6.6. Representación de (a) el primer momento de la fluorescencia y la conversión de la reacción, (b) la longitud de onda del máximo de emisión y la conversión, (c) la relación de intensidades de fluorescencia ($\lambda_{\text{em}}(1) = 506 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}(2) = 480 \text{ nm}$) y la conversión frente al tiempo en presencia de la sonda P1000-DANS para la formulación HDDMA/HEMA (10:0).

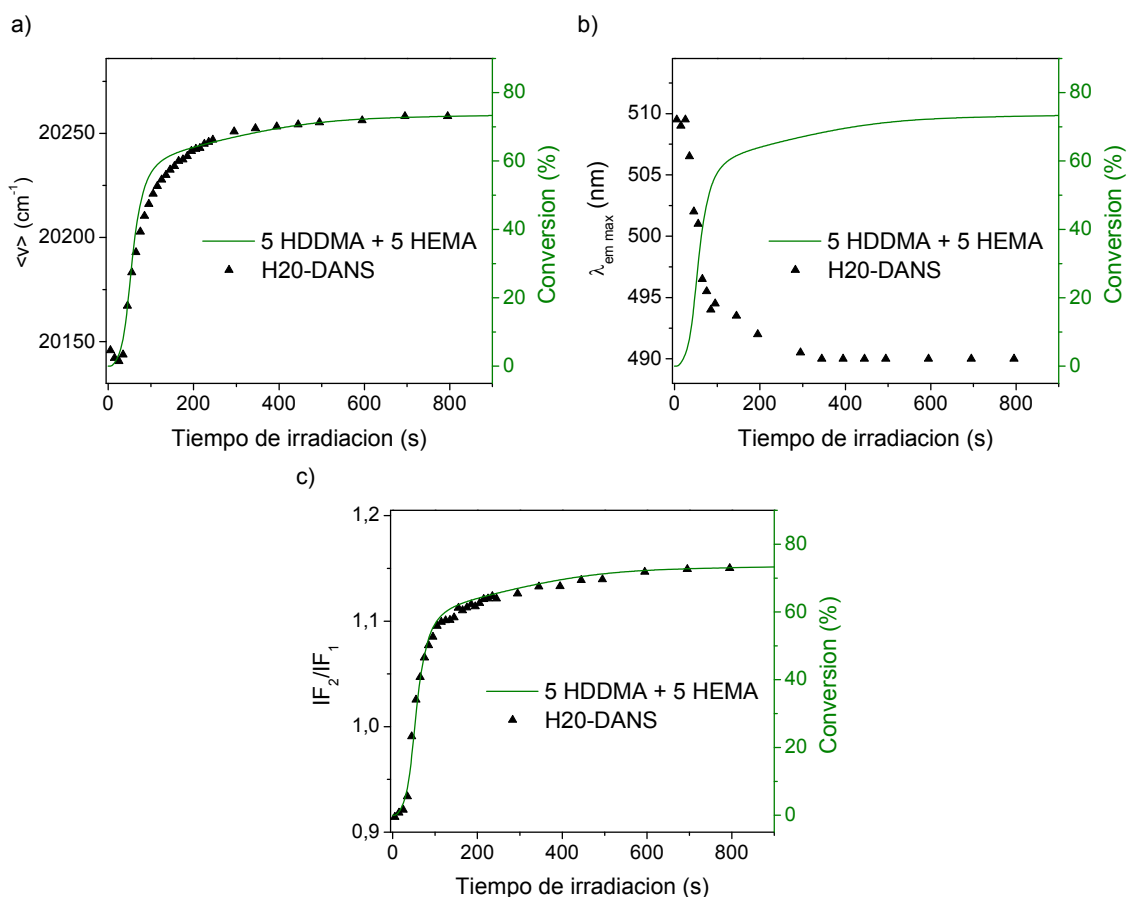


Figura 6.7. Representación de (a) el primer momento de la fluorescencia y la conversión de la reacción, (b) la longitud de onda del máximo de emisión y la conversión, (c) la relación de intensidades de fluorescencia ($\lambda_{em\ (1)} = 512\text{ nm}$, $\lambda_{em\ (2)} = 488\text{ nm}$) y la conversión frente al tiempo en presencia de la sonda H2O-DANS para la formulación HDDMA/HEMA (5:5).

Los tres parámetros analizados reproducen perfectamente el perfil cinético de la reacción obtenido con el DSC, por lo que cualquiera de ellos es adecuado para describir el proceso.

Anteriores autores han considerado $\langle \bar{\nu} \rangle$ como un parámetro que reduce la dispersión de los valores y mejora por tanto los resultados.¹³ En nuestro caso, se ha comprobado que el sistema de medida es lo suficientemente bueno como

¹³ (a) Mikeš, F.; González-Benito, J.; Baselga, J., Monitoring of curing process by fluorescence technique. Fluorescence probe and label based on 5-dimethylaminonaphthalene-1-sulfonamide derivatives (DNS). *Journal of Macromolecular Science - Physics* **2001**, *40B* (3-4), 405-428, (b) Mikeš, F.; González-Benito, J.; Serrano, B.; Bravo, J.; Baselga, J., Fluorescence monitoring of polymerization reaction. A new method for treating fluorescence experimental data. *Polymer* **2002**, *43* (16), 4331-4339.

para obtener muy poca dispersión de datos utilizando cualquiera de ellos. $\langle \bar{\nu} \rangle$ es un método absoluto de medida, y está comprobado que IF_2/IF_1 es independiente de las condiciones de medida, de la intensidad de irradiación y de la velocidad de polimerización,¹⁴ aunque sólo se puede utilizar cuando se observan desplazamientos en la banda de emisión. Dado que la simplicidad de cálculo es mayor en el parámetro IF_2/IF_1 que en $\langle \bar{\nu} \rangle$, de ahora en adelante se utilizará IF_2/IF_1 como parámetro para medir los cambios de fluorescencia.

Los parámetros cinéticos obtenidos por fluorescencia están resumidos en la Tabla 6.2. Los valores de velocidad de polimerización de fluorescencia (ρ) se han obtenido de la pendiente de la curva fluorescencia-tiempo a bajas conversiones, mientras que el factor de sensibilidad (S) se ha calculado a partir del incremento total del parámetro de fluorescencia empleado durante la polimerización, utilizando la Ecuación 6.9:

$$S = \frac{\Delta(IF_2/IF_1)}{(IF_2/IF_1)_i} = \frac{(IF_2/IF_1)_f - (IF_2/IF_1)_i}{(IF_2/IF_1)_i} \quad \text{Ecuación 6.9}$$

¹⁴ Bosch, P.; Fernández-Arizpe, A.; Mateo, J. L., New Fluorescent Probes for Monitoring the Photoinduced Polymerization of Acrylic and Methacrylic Monomers. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2001**, 202 (9), 1961-1969.

Tabla 6.2. Datos cinéticos de la fotopolimerización en bloque de HDDMA/HEMA foto iniciada con *Irgacure 651*® (1% en peso) bajo atmósfera de N₂ a 30 °C, I₀ = 1 mW/cm². C (sonda) = 2·10⁻⁶ M.

Sonda	Composición monómeros (en peso)		ρ (s ⁻¹)	$\Delta\lambda$ (nm)	S
	HDDMA	HEMA			
Mod-DANS	10	0	0.0060	21	1.43
	7	3	0.0075	26	1.60
	5	5	0.0087	22	1.49
P1000-DANS	10	0	0.0052	22	1.43
	7	3	0.0067	25	1.47
	5	5	0.0082	23	1.45
H20-DANS	10	0	0.0043	17	1.32
	7	3	0.0049	20	1.29
	5	5	0.0057	20	1.26

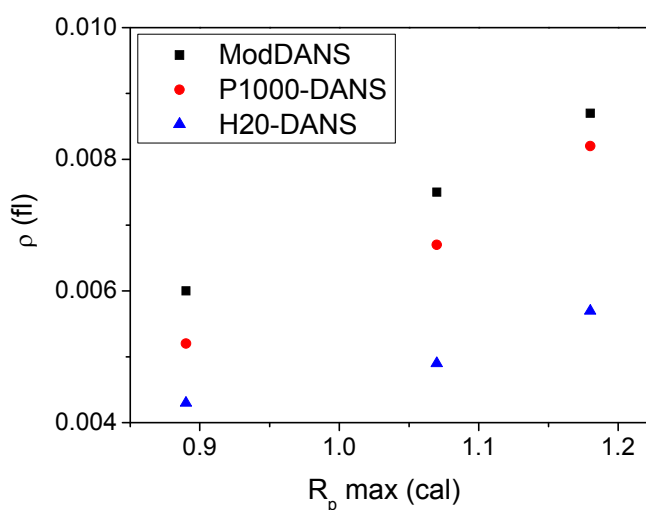


Figura 6.8. Relación entre las velocidades de polimerización determinadas por fluorescencia y calorimetría para las formulaciones estudiadas con las sondas Mod-DANS, P1000-DANS y H20-DANS.

Como se observa en la Figura 6.8, existe una relación lineal entre las velocidades de polimerización determinadas por calorimetría y fluorescencia. Además, se obtiene la misma relación entre ambas velocidades para las sondas Mod-DANS y P1000-DANS. Este resultado es especialmente reseñable e indica que el cromóforo no sufre reacciones de desactivación por grupos vecinos cuando está anclado en esta estructura polimérica relativamente congestionada.

La sonda H2O-DANS ha resultado ser ligeramente menos sensible que la sonda monocromofórica de bajo peso molecular, pero muestra una sensibilidad suficientemente buena, teniendo en cuenta la extraordinaria congestión de grupos funcionales.

Estas sondas poliméricas muestran una sensibilidad considerablemente mejor que la de los dendrímeros PAMAM funcionalizados con dansilo estudiados previamente en el grupo de investigación. En dichas sondas se observó un descenso de la sensibilidad al aumentar la generación del dendrímero, con valores inferiores a 1 para la estructura de segunda generación.¹⁵ Esta estructura PAMAM-G2 funcionalizada es referible tanto en peso molecular, número de ramas y número de grupos cromóforos a la estructura P1000-DANS.

Este resultado obtenido en los sensores hiperramificados frente a los dendrímeros análogamente funcionalizados corrobora los resultados descritos en el **Capítulo 4.4.2** (rendimientos cuánticos) y la hipótesis de partida de este trabajo. La estructura irregular de un polímero hiperramificado evita la desactivación bimolecular entre cromóforos adyacentes que sí se produce en las estructuras altamente ordenadas de un esqueleto dendrímérico,¹⁶ y por tanto, estos sensores fluorescentes policromofóricos exhiben sensibilidades similares que las de su compuesto modelo de bajo peso molecular.

¹⁵ Villavieja, M. M. Estudio de procesos dinámicos en polímeros mediante sondas fluorescentes. Aplicaciones al desarrollo de filmes poliméricos sensores. CSIC, Madrid, 2007.

¹⁶ Ceroni, P.; Bergamini, G.; Marchioni, F.; Balzani, V., Luminescence as a tool to investigate dendrimer properties. *Progress in Polymer Science* **2005**, *30*, 453-473.

La variación de los parámetros de fluorescencia (razón de intensidades y primer momento de fluorescencia) con la conversión calculada por calorimetría se muestra en la Figura 6.9. Como ejemplo se muestran los resultados para el sensor modelo de bajo peso molecular. Esta representación da una medida de la variación de rigidez del medio en función de la conversión.

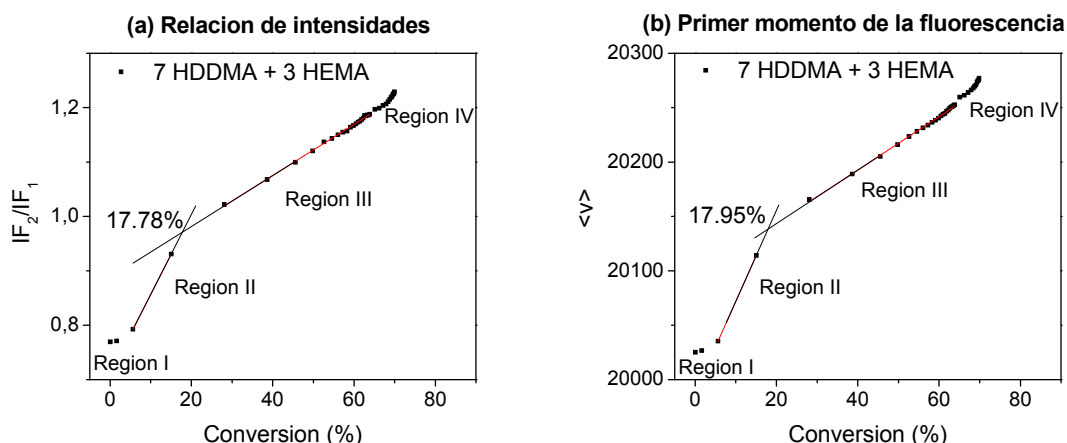


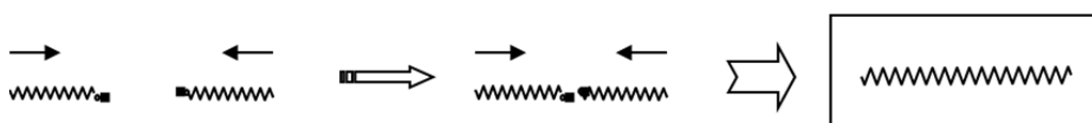
Figura 6.9. Representación de (a) la relación de intensidades de fluorescencia ($\lambda_{em}(1) = 510$ nm, $\lambda_{em}(2) = 480$ nm) y (b) del primer momento de la fluorescencia frente a la conversión de la copolimerización HDDMA/HEMA en presencia de la sonda ModDANS.

Se observa que la fluorescencia del sensor modelo experimenta cambios continuados a lo largo de toda la reacción de polimerización hasta conversión final de monómero. Los gráficos muestran cuatro regiones diferenciadas. El incremento de rigidez experimentado por el medio hasta conversiones en torno al 5% es moderado (Región I), y a continuación se suceden dos regiones en las que la fluorescencia varía linealmente con la conversión hasta conversión final (Región II y III). Por último, se detecta un incremento mayor de la rigidez al final de la reacción (Región IV). Los dos tramos lineales muestran valores diferentes de pendiente y un punto de intersección a conversiones cercanas al 18%, independientemente del parámetro que se emplee para medir la variación de fluorescencia.

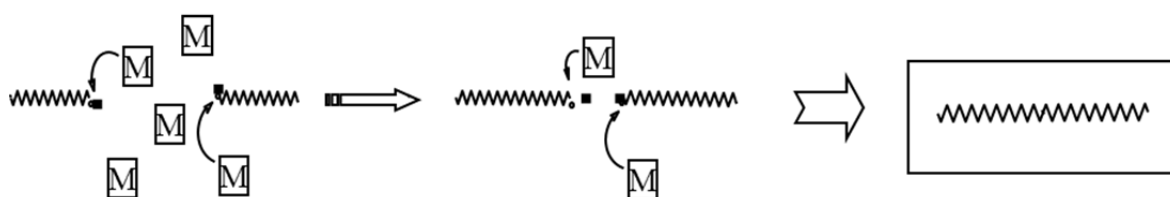
Este comportamiento se puede explicar a partir del mecanismo de polimerización. A medida que avanza la fotopolimerización, la fracción de volumen libre decrece como resultado de la conversión de monómero en polímero. El monómero sufre reacciones de reticulación y forma redes poliméricas tridimensionales complejas. En consecuencia, la viscosidad del

sistema aumenta muy rápidamente (Región II). Cuando se alcanza la gelificación del medio, los macrorradicales en crecimiento dejan de poder difundir, y es el mecanismo de reacción por difusión el que empieza a controlar la reacción: los macrorradicales están atrapados en la matriz y sólo difunden las moléculas de monómero. De esta manera la cadena en propagación crece lentamente hasta encontrarse con un segundo radical para dar la terminación de cadena.¹⁷ El incremento de la rigidez es más lento y esto se refleja en una menor pendiente en la Región III.

a) Reacción de terminación en medios líquidos: difusión



b) Reacción de terminación en sistemas vitrificados: difusión por reacción



Esquema 6.5. Explicación gráfica de los dos posibles mecanismos de reacción de terminación.

Este punto singular se puede relacionar con el inicio de la gelificación del material, en el que la red tridimensional ya está formada en torno a la sonda y restringe aún más la capacidad de giro de los enlaces del rotor molecular.¹⁸ Además, el punto singular obtenido por fluorescencia que marca el inicio de la

¹⁷ J.L. Mateo, M. C., J. Serrano, P. Bosch, Photoinitiated Polymerization of Di- and Tetrafunctional Methacrylic Monomers in a SBS Matrix. Kinetic, Mechanistic, and Structural Aspects. *Macromolecules* **1999**, 32 (16), 5243-5250.

¹⁸ Bosch, P.; Fernández-Arizpe, A.; Mateo, J. L.; Catalina, F.; Peinado, C., New fluorescent probes for monitoring the polymerization reaction: p-vinyliden derivatives of N,N-dimethylaminoaryl compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2002**, 153, 135-143.

gelificación coincide con el comienzo del descenso de R_p obtenido por DSC (Figura 6.3), pero determina este momento de manera más precisa.

La Figura 6.10 muestra la variación en la fluorescencia que exhibe P1000-DANS con la conversión del doble enlace de los monómeros para diversas proporciones de monómero monofuncional en las copolimerizaciones.

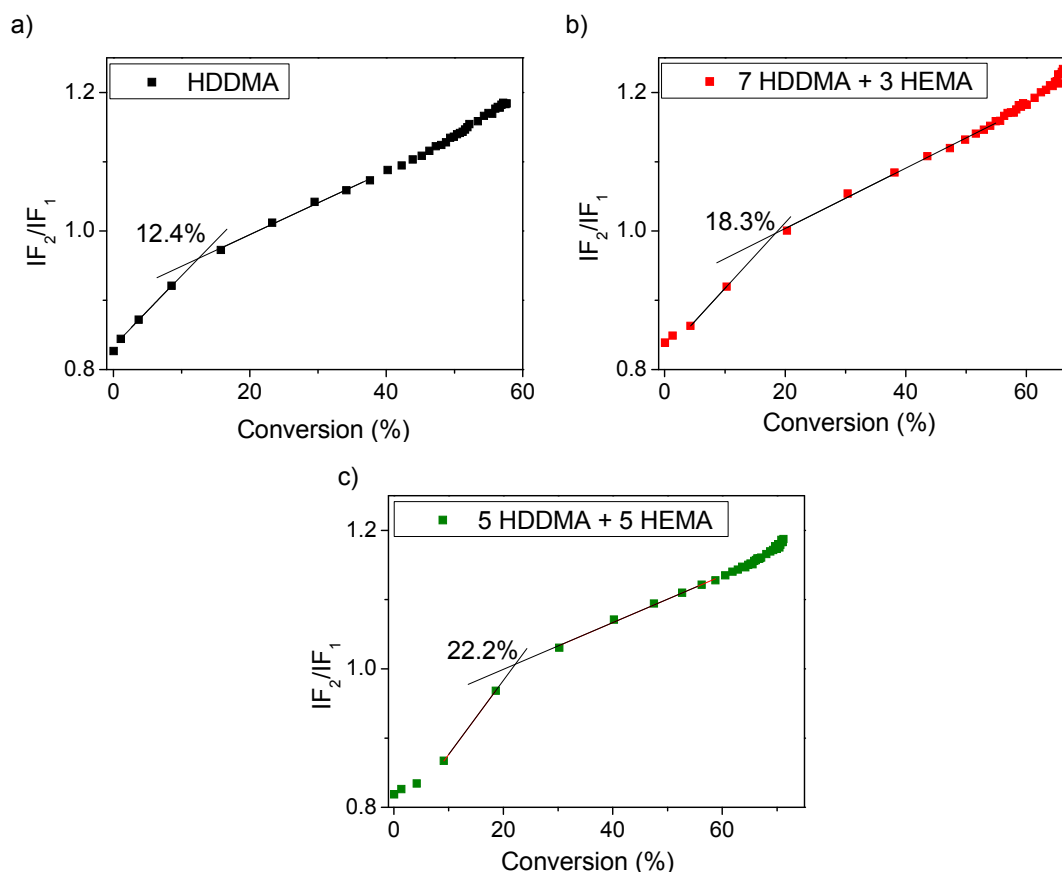


Figura 6.10. Correlación de la variación de fluorescencia de la sonda P1000-DANS frente a la conversión de doble enlace.

En todas las formulaciones se observa el mismo comportamiento descrito para el modelo, pero el punto asociado al inicio de la gelificación se desplaza a mayores conversiones a medida que aumenta la fracción en peso del monómero monofuncional, desde un 12% para la homopolimerización del HDDMA hasta un 22% para la formulación con mayor proporción de HEMA. Además, se observa que la pendiente de la recta correspondiente a la Región II disminuye al aumentar la fracción de monómero monofuncional. Ambos hechos son consecuencia de la mayor flexibilidad de la red que se está formando, ya

que presenta un menor grado de entrecruzamiento para el mismo grado de conversión de dobles enlaces, y por tanto, mayor movilidad.

De este modo, el seguimiento de la fotopolimerización combinando las técnicas de fluorescencia y fotocalorimetría no sólo da información sobre el perfil cinético o la finalización del proceso, sino que también permite estimar la rigidez del medio en todo momento.

Por otra parte, en algunos casos se produce un aumento de la emisión de fluorescencia de la sonda una vez se ha alcanzado conversión final (Figura 6.10.b y 6.10.c). Esto implica que el medio sigue aumentando su rigidez, a pesar de que ha terminado la reacción de conversión de dobles enlaces. Este aumento de rigidez se atribuye a la existencia de reacciones secundarias de entrecruzamiento, producidas por la reacción de captura de $H\cdot$ por los radicales iniciadores atrapados en la red,¹⁹ y formación de entrecruzamientos por combinación. Se observa que esta reacción se produce en mayor extensión al término de las polimerizaciones con mayor fracción de monómero monofuncional, puesto que en este caso existe una relativa movilidad que permite un cierto movimiento de los radicales atrapados para reaccionar con moléculas vecinas.

Estas reacciones secundarias que no implican conversión de dobles enlaces (y por tanto no suponen liberación de calor) no son detectables por la técnica de DSC.

¹⁹ Bosch, P.; Fernández, A.; Salvador, E. F.; Corrales, T.; Catalina, F.; Peinado, C., Polyurethane-acrylate based films as humidity sensors. *Polymer* **2005**, *46*, 12200-12209.

6.3.2. Polimerización de dimetacrilatos con longitud de cadena variable.

Se ha estudiado la reacción de homopolimerización en bloque de los monómeros difuncionales EGDMA, TEGDMA y PEGDMA, todos ellos dimetacrilatos en los que varía el número de la unidad repetitiva, etilénglicol, aumentando así la longitud de cadena entre las funcionalidades susceptibles de polimerización. Las estructuras se muestran en la Figura 6.11.

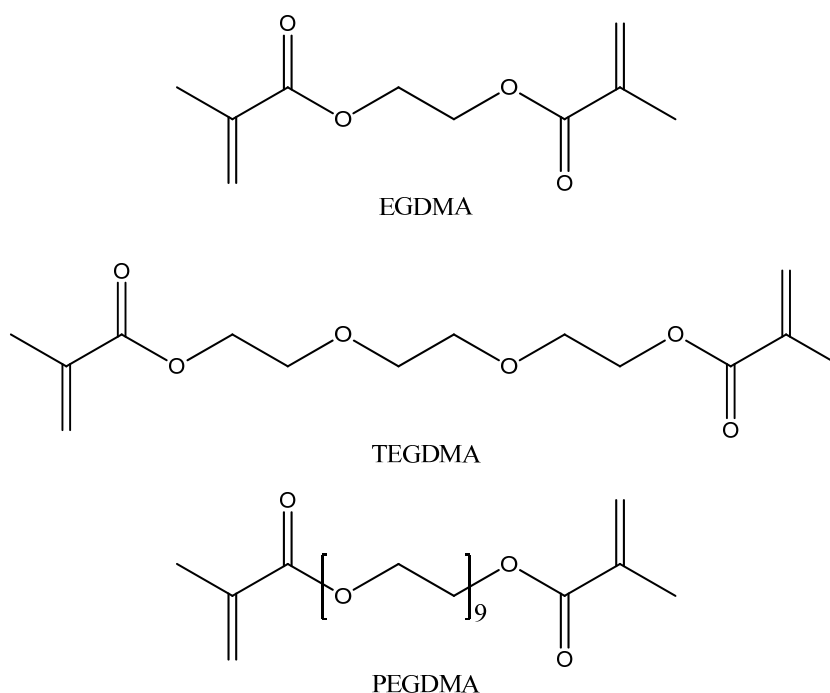


Figura 6.11. Estructura de los monómeros metacrílicos polimerizados.

En la Figura 6.12 se muestran los perfiles cinéticos conversión-tiempo de irradiación, así como las velocidades de polimerización frente a la conversión en cada momento para todas las formulaciones estudiadas.

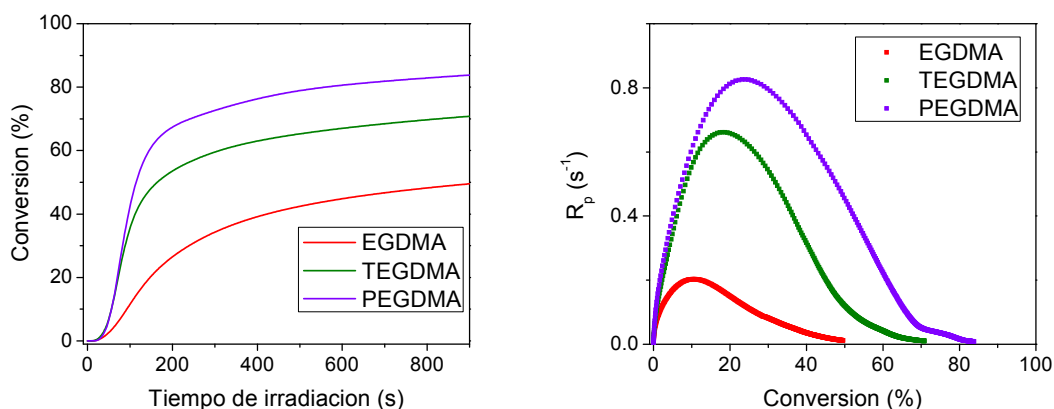


Figura 6.12. Representación de (a) conversión en función del tiempo de irradiación y (b) la velocidad de polimerización de EGDMA, TEGDMA y PEGDMA en función de la conversión.

La conversión se ha calculado con la Ecuación 6.9, empleando como valor para la energía de disociación del doble enlace de 42 KJ/mol.²⁰ La conversión final alcanzada depende del monómero empleado, obteniéndose valores entre el 50% y el 85%. Al aumentar el número de unidades de etilenglicol entre los grupos metacrilato, aumenta la longitud de cadena entre los puntos de entrecruzamiento, por lo que se produce un aumento de la flexibilidad de la cadena.

En la Tabla 6.3 se resumen todos los datos de *velocidad de polimerización* (R_p), tomada a bajas conversiones en el tramo lineal de la curva conversión-tiempo; la conversión *final* (α_{final}), tomada en el último punto de la curva conversión-tiempo; la *velocidad de polimerización máxima* ($R_{p \text{ max}}$) y la *conversión alcanzada en el máximo de la velocidad de polimerización* (α_{max}), ambas tomadas en el máximo de la curva R_p -conversión.

²⁰ Gallagher, P. K.; Brown, M. E., *Handbook of thermal analysis and calorimetry*. 2008; Vol. 5.

Tabla 6.3. Datos cinéticos de la fotopolimerización en bloque de nEGDMA fotoiniciada con *Irgacure 651*® (1% en peso) bajo atmósfera de N₂ a 30 °C, I₀ = 0,30 mW/cm².

Monómero	R _p (mol/L·s)	α _{final} (%)	R _{p max} (s ⁻¹)	α _{max} (%)
EGDMA	0.21 ± 0.03	49.1 ± 1.2	0.21 ± 0.03	10.3 ± 1.1
TEGDMA	0.62 ± 0.16	67.5 ± 3.3	0.63 ± 0.15	17.1 ± 2.5
PEGDMA	0.74 ± 0.06	85.0 ± 5.9	0.75 ± 0.07	22.4 ± 1.5

Los resultados obtenidos son los esperados: aumento de la velocidad de polimerización, conversión final y grado de conversión a la velocidad máxima de polimerización a medida que aumenta la longitud del espaciador etilenglicol entre los grupos metacrilato.

Simultáneamente a la variación entálpica, se siguieron los cambios en el espectro de fluorescencia de las sondas derivadas de dansilo (DANSino, P1000-DANS y H20-DANS) durante la fotopolimerización de estos monómeros. En la Figura 6.13 se representa, a modo de ejemplo, la relación de intensidades de la fluorescencia de la sonda H20-DANS con el tiempo de irradiación, junto con la variación de la conversión con el tiempo.

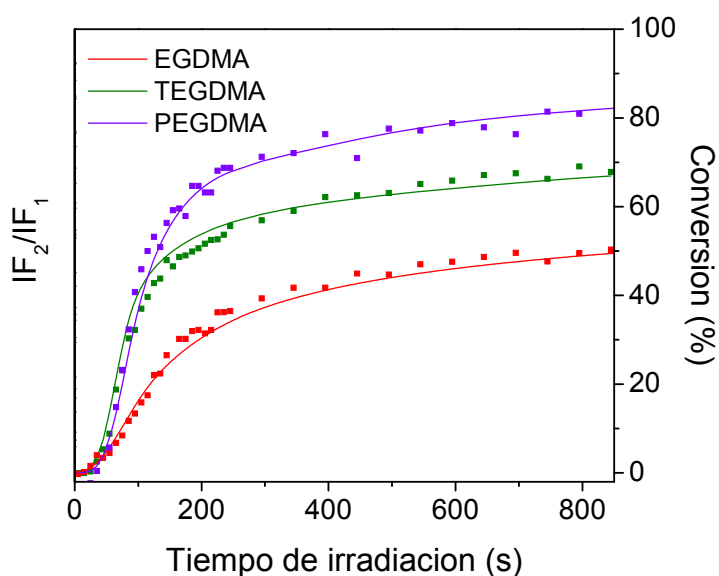


Figura 6.13. Representación de la razón de intensidades a dos longitudes de onda diferentes de la sonda H20-DANS, en función del tiempo de irradiación de los monómeros EGDMA (λ_{em}

(1) = 507 nm, λ_{em} (2) = 485 nm), DEGDMA (λ_{em} (1) = 509 nm, λ_{em} (2) = 494 nm), TEGDMA (λ_{em} (1) = 512 nm, λ_{em} (2) = 493 nm) y PEGDMA (λ_{em} (1) = 514 nm, λ_{em} (2) = 498 nm).

El progreso de la reacción también se puede seguir tomando como parámetro de medida la longitud de onda en el máximo de emisión, tal y como se muestra en la Figura 6.14.

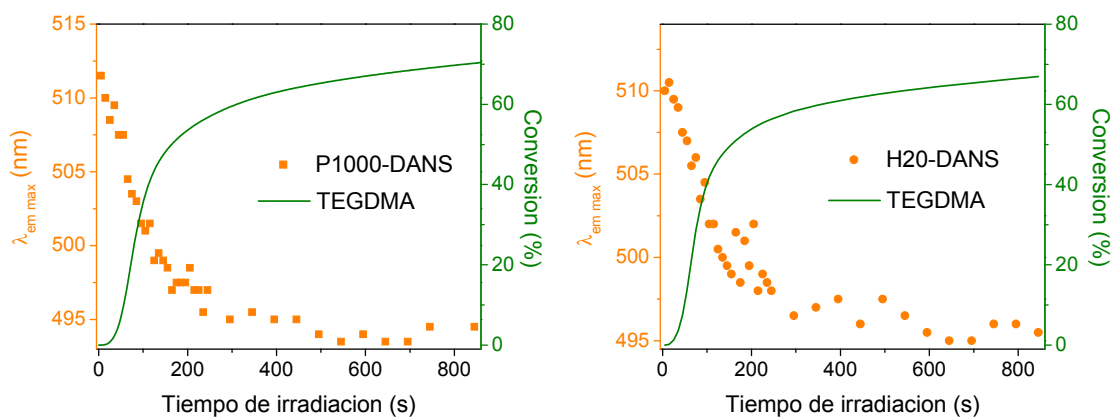


Figura 6.14. Representación de la longitud de onda en el máximo de emisión de la sonda P1000-DANS, en función del tiempo de irradiación para la reacción de fotopolimerización del monómero TEGDMA.

Los parámetros cinéticos obtenidos por fluorescencia están resumidos en la Tabla 6.4.

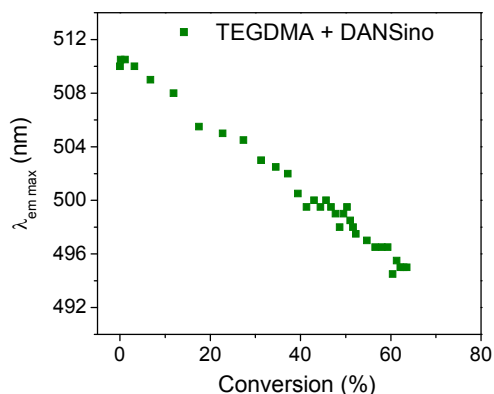
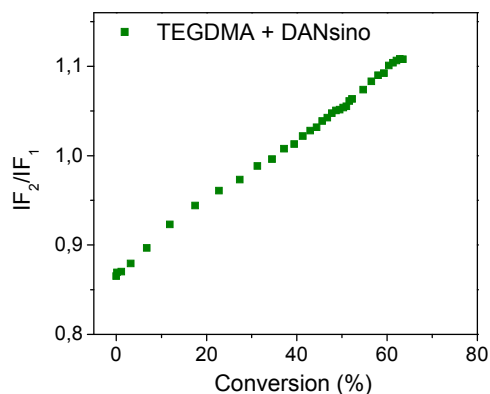
Tabla 6.4. Datos cinéticos de la fotopolimerización en bloque de nEGDMA fotoiniciada con *Irgacure 651*® (1% en peso) bajo atmósfera de N₂ a 30 °C, I₀ = 0,30 mW/cm².

Monómero	Sonda	ρ (s ⁻¹) e-4	$\Delta\lambda$ (nm)	S
EGDMA	DANSino	9	15	1.03
	P1000-DANS	9	16	1.03
	H20-DANS	10	18	1.04
TEGDMA	DANSino	18	14	1.03
	P1000-DANS	19	17	1.03
	H20-DANS	17	15	1.03
PEGDMA	DANSino	14	12	1.02
	P1000-DANS	20	15	1.03
	H20-DANS	11	14	1.02

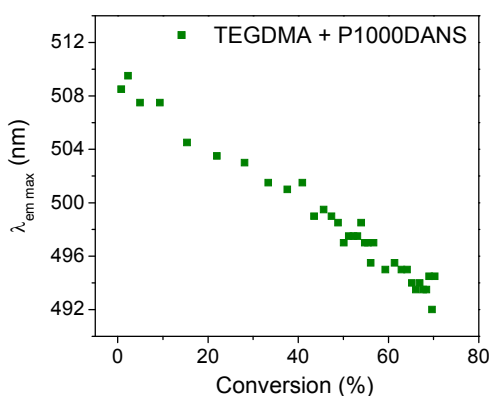
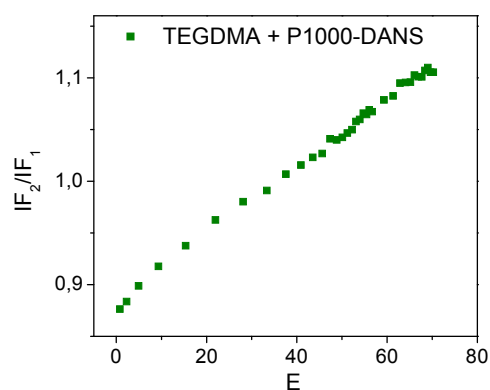
Se observa que ambas sondas poliméricas presentan la misma sensibilidad que su homólogo monocromofórico.

Tanto la razón de intensidades de fluorescencia como la longitud de onda en el máximo de emisión se pueden correlacionar en función de la conversión (Figura 6.15).

a) DANSino



b) P1000-DANS



c) H20-DANS

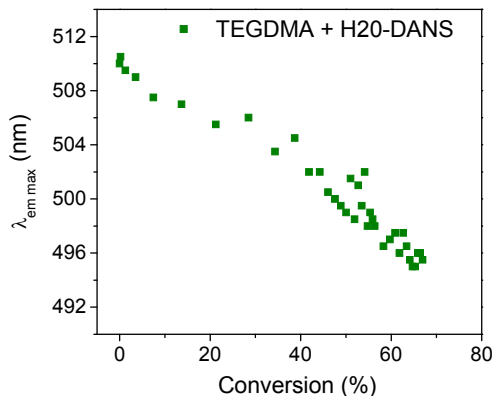
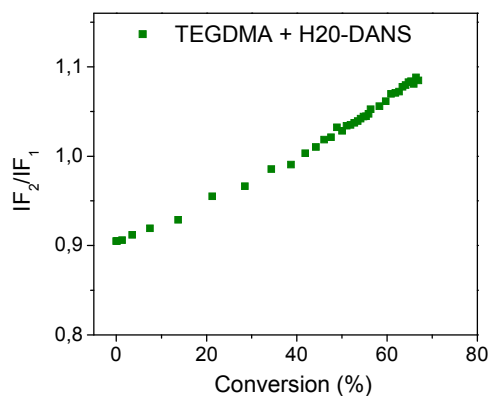


Figura 6.15. Representación de la razón de intensidades de fluorescencia (izq) y la longitud de onda en el máximo de emisión (dcha) en función de la conversión para la reacción de fotopolimerización del monómero TEGDMA en presencia de la sonda (a) DANSino, (b) P1000-DANS y (c) H20-DANS.

A la vista de los resultados gráficos, se observa que la relación de ambos parámetros de fluorescencia en función de la conversión es lineal en todo el intervalo de la fotopolimerización. Por tanto, la respuesta de fluorescencia de

estas sondas es proporcional al grado de polimerización para cada sistema sonda/monómero.

Se observa también que la dispersión de los datos es mayor cuando se utiliza como parámetro de medida la longitud en el máximo de emisión, especialmente cuando se emplean las sondas poliméricas, lo que corrobora la elección de la relación de intensidades de emisión como parámetro de medida.

En las Figuras 6.16 y 6.17 se muestran todas las correlaciones de la razón de intensidades de fluorescencia en función de la conversión para las sondas policromofóricas P1000-DANS y H20-DANS.

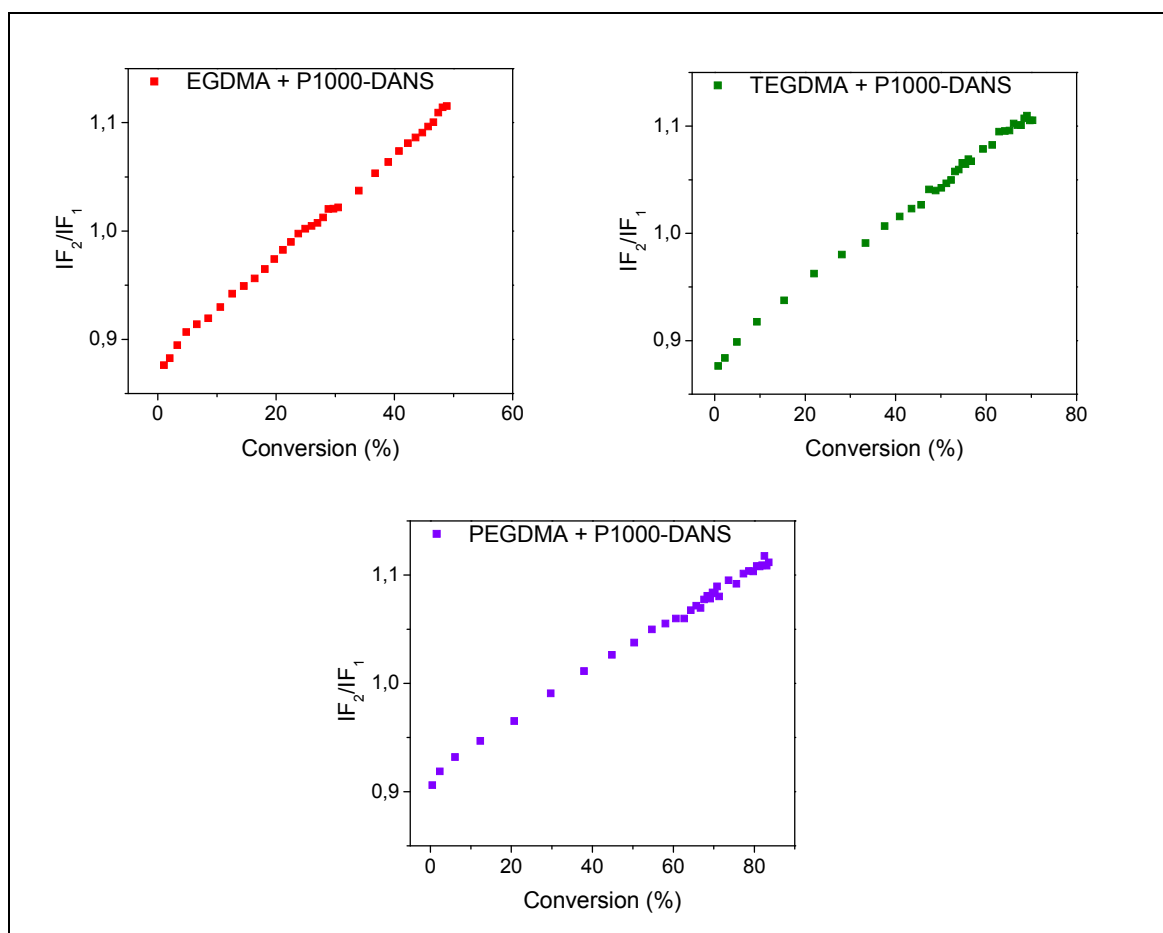


Figura 6.16. Representación de la razón de intensidades de fluorescencia de la sonda P1000-DANS en función de la conversión para todas las reacciones de homopolimerización de los monómeros EGDMA ($\lambda_{em}(1) = 511$ nm, $\lambda_{em}(2) = 491$ nm), TEGDMA ($\lambda_{em}(1) = 511$ nm, $\lambda_{em}(2) = 492$ nm) y PEGDMA ($\lambda_{em}(1) = 518$ nm, $\lambda_{em}(2) = 498$ nm).

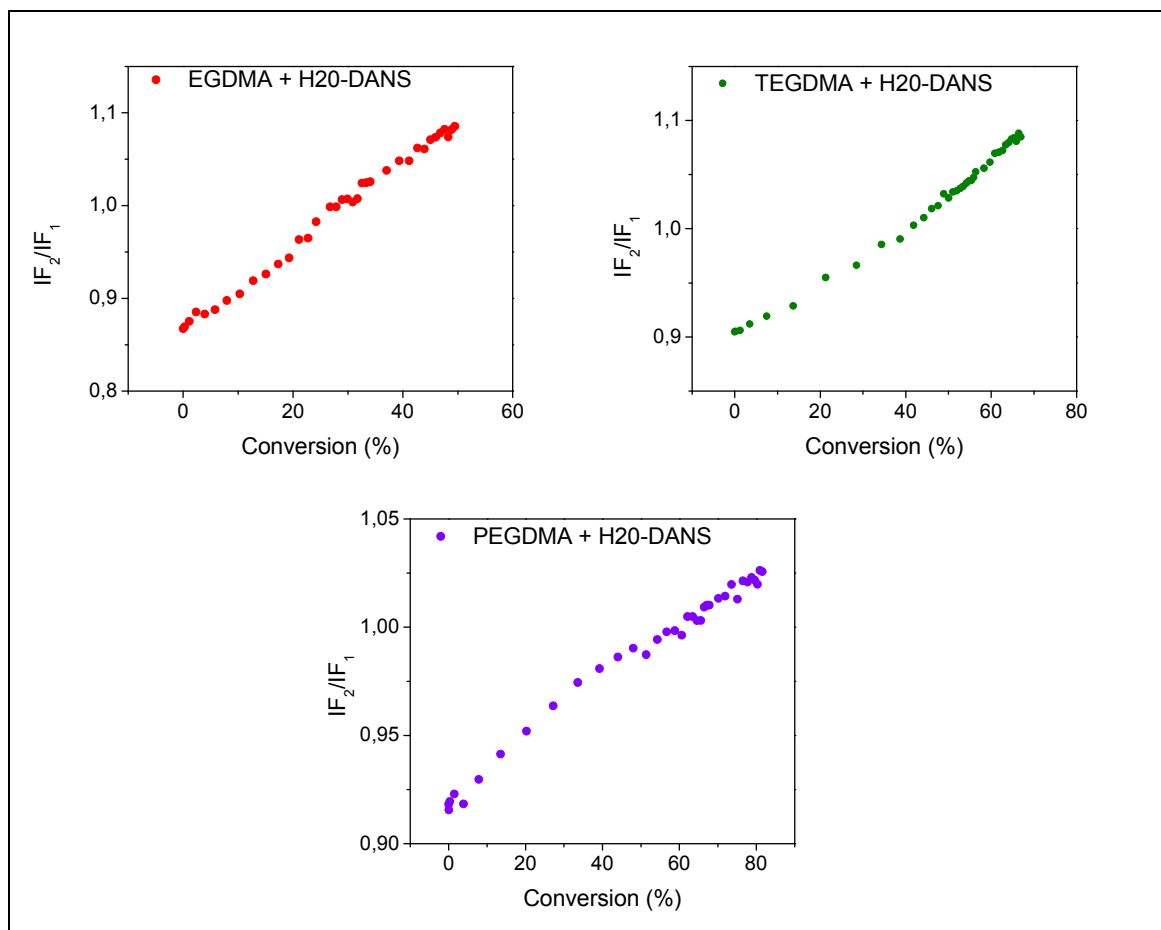


Figura 6.17. Representación de la razón de intensidades de fluorescencia de la sonda H2O-DANS en función de la conversión para todas las reacciones de homopolimerización de los monómeros EGDMA ($\lambda_{em}(1) = 507$ nm, $\lambda_{em}(2) = 485$ nm), TEGDMA ($\lambda_{em}(1) = 512$ nm, $\lambda_{em}(2) = 493$ nm) y PEGDMA ($\lambda_{em}(1) = 514$ nm, $\lambda_{em}(2) = 498$ nm).

En comparación con el estudio de copolimerización (HDDMA/HEMA), estos gráficos, muestran una única región lineal, sin un punto de intersección apreciable. Esto se puede atribuir a la mayor flexibilidad de la red formada en este caso, que hace difícilmente distinguible la etapa de difusión por reacción: por un lado permite una mejor difusión de las moléculas pequeñas, y además, facilita en esta última etapa el giro del enlace C-N de la sonda, no pudiéndose detectar el cambio de la pendiente de emisión que se presenta en sistemas más rígidos. Este comportamiento ha sido ya descrito para otros sistemas flexibles.¹⁴

De la disminución de las pendientes de estas rectas (Tabla 6.5) se puede observar la mayor flexibilidad de la red a medida que aumenta la longitud del espaciador, de EGDMA a PEGDMA.

Tabla 6.5. Valores de las pendientes obtenidas de las representaciones IF_2/IF_1 vs Conversión de la fotopolimerización en bloque de nEGDMA.

Monómero	DANSino	P1000-DANS	H20-DANS
EGDMA	0.0049	0.0046	0.0045
TEGDMA	0.0037	0.0032	0.0028
PEGDMA	0.0016	0.0023	0.0015

Una vez más, se observa la concordancia de los datos obtenidos con las tres sondas, no apreciándose diferencias entre la monomérica y las poliméricas.

CAPÍTULO 7

APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN MEDIOS POLIMÉRICOS

7. APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN MEDIOS POLIMÉRICOS.

7.1. INTRODUCCIÓN.

Para que una molécula actúe como un dispositivo sensor y sea posible su utilización práctica es necesario que esté soportada o insertada en un material inerte. Este material debe permitir la detección del fenómeno de interés (difusión del analito a su través o sensibilidad superficial a éste), ha de tener unas propiedades físicas, químicas y mecánicas específicas (como transparencia, resistencia a la degradación ambiental y a los contaminantes químicos, etc.), además su procesado debe ser sencillo, económico y versátil. Todos estos requisitos confluyen en utilizar como soporte una matriz de naturaleza polimérica.

La mayoría de los dispositivos sensores utilizan polímeros como material, ya sean en sí mismos los responsables de la detección o sean seleccionados como soporte inerte que alberga la molécula sensora.¹

El desarrollo de materiales poliméricos sensores para el análisis ambiental basado en la señal de fluorescencia es un tema candente dentro del campo de los sensores, y más concretamente los sensores dedicados a la detección y cuantificación de contaminantes químicos y biológicos en medios gaseosos y líquidos.²

¹ (a) Adhikari, B.; Majumdar, S., Polymers in sensor applications. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29 (7), 699-766, (b) Potyrailo, R. A., Polymeric Sensor Materials: Toward an Alliance of Combinatorial and Rational Design Tools? *Angewandte Chemie* **2006**, 45 (5), 702-723.

² (a) Campbell, M., *Sensor Systems for Environmental Monitoring*. Springer: **1997**; p 359, (b) Ibañez, G. A.; Escandar, G. M., Fluorescence and Phosphorescence Chemical Sensors Applied to Water Samples. In *Smart Sensors for Real-Time Water Quality Monitoring*, Mukhopadhyay, S. C.; Mason, A., Eds. Springer: Berlin, **2013**; pp 45-64, (c) Prakash, S.; Chakrabarty, T.; Singh, A. K.; Shahi, V. K., Polymer thin films embedded with metal

Los sensores basados en filmes poliméricos reúnen la mayor parte de las ventajas descritas.

Filmes que alberguen en su seno derivados de dansilo permiten el estudio del efecto de la polaridad del disolvente.³ En el caso de los derivados de naftalimida, pueden encontrarse en la bibliografía algunos ejemplos sensores fluorescentes incorporados en matrices poliméricas, que permiten estudiar los cambios en la fluorescencia tras la unión con los protones o iones metálicos presentes en la disolución.⁴ También se han realizado algunos estudios con derivados de acridina soportados en materiales poliméricos como sensor de pH.⁵

En este Trabajo se han preparado diversas matrices poliméricas en las que se han incorporado las sondas de dos maneras diferentes:

- 1) Filmes dopados con sondas.
- 2) Filmes con sondas ancladas.

nanoparticles for electrochemical biosensors applications. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, 41 (1), 43-53.

³ (a) Randall, S.; Holmes-Farley; Whitesides, G. M., Fluorescence properties of dansyl groups covalently bonded to the surface of oxidatively functionalized low-density polyethylene film. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **1986**, 2 (3), 266–281, (b) Bergbreiter, D. E.; Hein, M. D., Effect of solvent polarity on functionalized polyethylene-solution interfaces. *Macromolecules* **1990**, 23 (3), 764-769, (c) Cimrová, V.; Výprachtický, D.; Hörhold, H.-H., Poly[methyl(phenyl)silanediy] modified with dansyl fluorophore: Synthesis and photophysics. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2011**, 49 (10), 2233-2244.

⁴ (a) Daffy, L. M.; Silva, A. P. d.; Gunaratne, H. Q. N.; Huber, C.; Lynch, P. L. M.; Werner, T.; Wolfbeis, O. S., Arenedicarboximide building blocks for fluorescent photoinduced electron transfer pH sensors applicable with different media and communication wavelengths. *Chemistry - A European Journal* **1998**, 4 (9), 1810-1815, (b) Grabchev, I.; Dumas, S.; Chovelon, J.-M., Studying the photophysical properties of a polymerizable 1,8-naphthalimide dye and its copolymer with styrene as potential fluorescent sensors for metal cations. *Polymers for advanced technologies* **2008**, 19, 316-321.

⁵ A.G., R.; S., P.; T.J., G., Evaluation of acridine in Nafion as a fluorescence-lifetime-based pH sensor. *Applied Spectroscopy* **2003**, 57 (1), 73-79.

En función de la matriz utilizada en los filmes dopados, se emplearon diversos procedimientos de dopaje: por adsorción en el material ya procesado (filmes de PE); por dispersión de la sonda en el sistema (en los filmes de PVC preparados por casting) o por adición a la formulación antes de la polimerización (en las matrices acrílicas y epoxídicas fotopolimerizables).

En el caso de las sondas ancladas a matrices epoxídicas, se introdujo en uno de los monómeros un grupo reactivo, que se hizo reaccionar con la sonda fluorescente una vez polimerizado el sistema.

Se ha evaluado la sensibilidad de las sondas sintetizadas cuando éstas están incorporadas en las matrices poliméricas. En los siguientes apartados se presentan los resultados clasificados por sensibilidad al estímulo de interés.

7.2. FILMES DOPADOS CON SONDAS.

Se ha realizado el estudio de la sensibilidad de las sondas en filmes dopados frente a los estímulos que previamente se estudiaron en disolución.

Las matrices poliméricas empleadas como soporte han sido polietileno, PVC, resinas epoxi y resinas acrílicas, todas ellas transparentes a las longitudes de onda de excitación y de análisis, de fácil procesado en forma de filme y compatibles estructuralmente con las sondas utilizadas.

Los filmes de PE y los acrílicos (HDDMA/HEMA 1:1) dopados con las sondas derivadas de dansilo y naftalimida se sumergieron en disolventes de diferente polaridad (ciclohexano, acetato de etilo y etanol) y se midió su fluorescencia.

En las Tablas 8.1 y 8.2 se indican los desplazamientos del máximo de emisión de los filmes sumergidos en dichos disolventes.

Tabla 7.1. Longitudes de onda correspondientes al máximo de emisión (λ_{em} , nm) de los filmes dopados con sondas derivadas de dansilo, en seco y sumergidos en diferentes disolventes. Se incluyen como referencia los máximos de los cromóforos en disolución (*)

Matriz	Cromóforo	Filme seco	Ciclohexano	AcOEt	EtOH
(*)	DANSino	-	451	500	523
	P1000-DANS	-	454	500	520
	H20-DANS	-	451	507	523
PE	DANSino	453	454	496	506
	P1000-DANS	No se ve	No se ve	499	508
HDDMA/HEMA 1:1	DANSino	485	487	492	497
	P1000-DANS	486	488	494	515
	H20-DANS	486	488	503	517

Tabla 7.2. Longitudes de onda correspondientes al máximo de emisión (λ_{em} , nm) de los filmes dopados con sondas derivadas de naftalimida, en seco y sumergidos en diferentes disolventes. Se incluyen como referencia los máximos de los cromóforos en disolución (*)

Matriz	Cromóforo	Filme seco	Ciclohexano	AcOEt	EtOH
(*)	NAFTino	-	467	511	528
	P1000-NAFT	-	470	515	533
PE	NAFTino	465	468	482	491
	P1000-NAFT	No se ve	No se ve	498	522
HDDMA/HEMA 1:1	NAFTino	503	503	505	519
	P1000-NAFT	510	511	512	526

A modo de ejemplo, en la Figura 7.1 se muestran los espectros de emisión de fluorescencia para los filmes de PE dopados con NAFTino y P1000-NAFT, tanto en seco como en inmersión de los diferentes disolventes. Y en la Figura 7.2 se muestran los espectros de emisión de los filmes acrílicos dopados con las sondas hiperramificadas derivadas de dansilo, P1000-DANS y H20-DANS.

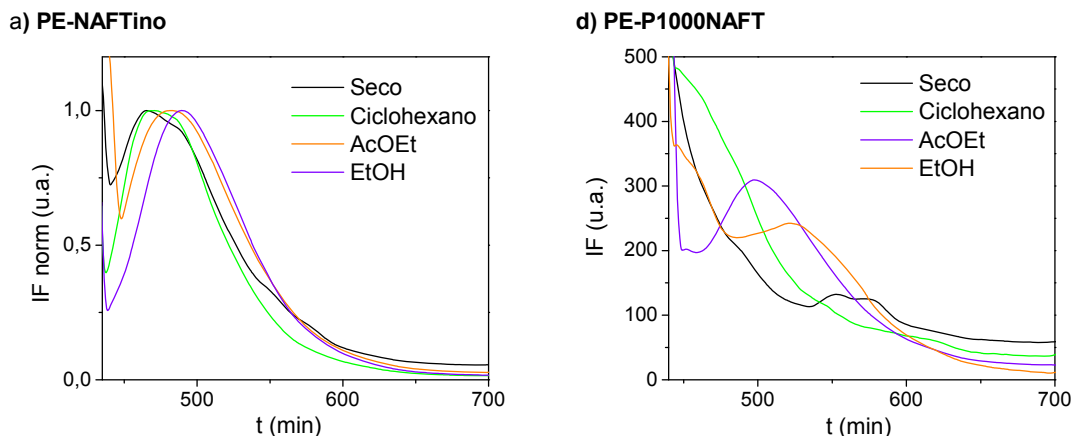


Figura 7.1. Espectros de fluorescencia en seco y en inmersión ($\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$) de los filmes de PE dopados con las sondas: a) NAFTino y b) P1000-NAFT.

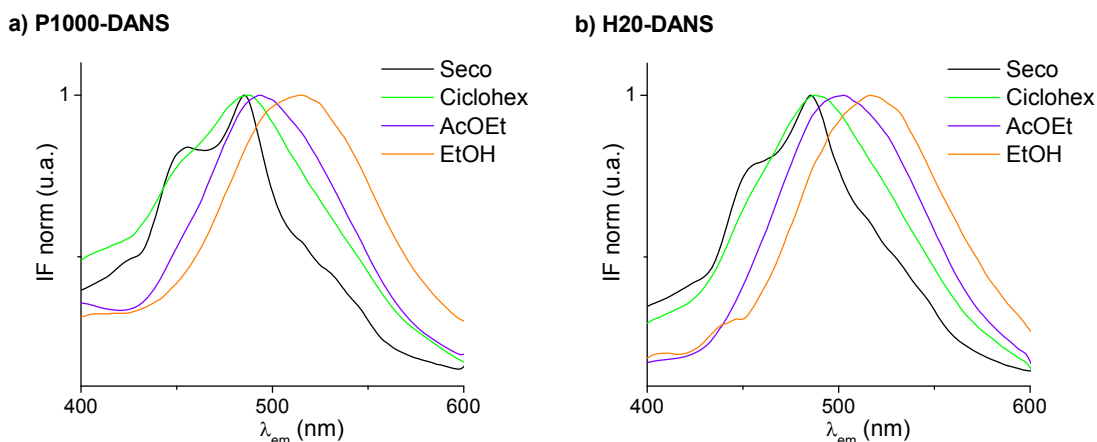


Figura 7.2. Espectros de fluorescencia en seco y en inmersión ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$) de los filmes acrílicos polymerizados con las sondas: a) P1000-DANS y b) H20-DANS.

Se observa cómo, en todos los casos, los espectros de emisión se desplazan hacia el rojo a medida que aumenta la polaridad del disolvente.

Cuando la sonda está incluida en una matriz acrílica, o incluso en una de PE, la solvatación que ocurre en la matriz por la penetración del disolvente es suficiente como para que el desplazamiento de la banda tenga su máximo de emisión situado en la misma posición que en disolución.

7.2.1. Coeficientes de difusión.

De acuerdo a los estudios realizados por Torkelson *et al.*,⁶ se puede estudiar el proceso de transporte de un disolvente a través de polímeros reticulados mediante el seguimiento de la emisión de fluorescencia de los filmes.

El coeficiente de difusión se obtiene a partir de los datos de emisión de fluorescencia medidos a diferentes tiempos, utilizando la aproximación de Torkelson como una versión de la ley de Fick que incluye la fluorescencia:

$$\frac{I-I_0}{I_{eq}-I_0} = \left(\frac{2}{l}\right)\left(\frac{Dt}{\pi}\right)^{1/2} \quad \text{Ecuación 7.1}$$

Donde I es la intensidad de fluorescencia en el máximo a un tiempo determinado, I_0 es la intensidad inicial, I_{eq} la intensidad en el equilibrio, l es el espesor del filme, D es el coeficiente de difusión y t es el tiempo.

En este caso, se ha utilizado el parámetro IF_2/IF_1 en lugar de la intensidad en el máximo. Este parámetro ha sido usado en nuestro grupo de investigación en otros tipos de formulaciones.⁷ La ventaja de utilizar la fluorescencia para monitorizar los procesos de permeación es que permite estudiar filmes muy finos o realizar la medida in situ (por ejemplo, recubrimientos), sistemas cuyo estudio por gravimetría sería imposible.

El hinchamiento de los filmes acrílicos dopados, sumergidos en acetonitrilo, se monitorizó midiendo la variación de la banda de emisión de fluorescencia con el tiempo. En la Figura 7.3 se muestran los resultados utilizando las sondas hiperramificadas y el cromóforo DANSino como aditivos.

⁶ Miller, K. E.; Burch, E. L.; Lewis, F. D.; Torkelson, J. M., In situ monitoring of free-radical polymerization by fluorescence quenching of fluorene and reactive derivatives. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics* **1994**, 32 (16), 2625-2635.

⁷ Bosch, P.; Fernández, A.; Salvador, E. F.; Corrales, T.; Catalina, F.; Peinado, C., Polyurethane-acrylate based films as humidity sensors. *Polymer* **2005**, 46, 12200-12209.

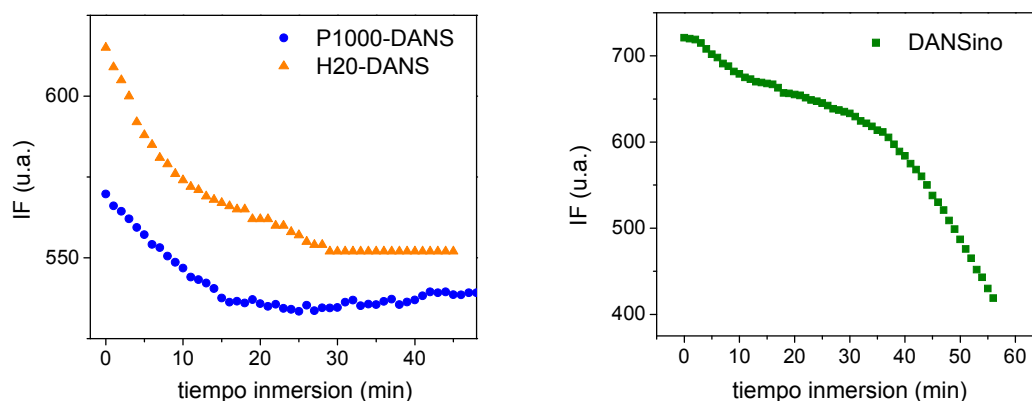


Figura 7.3. Variación de la emisión de fluorescencia de DANSino, P1000-DANS y H2O-DANS durante la inmersión de los filmes acrílicos en acetonitrilo ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$).

El proceso de hinchamiento de los filmes es muy rápido, alcanzando el equilibrio alrededor de los 25 min. Para los filmes con sondas hiperramificadas, la posición de la banda de emisión se desplaza sólo 3 nm (de 492 a 495 nm), por lo que la disminución de la fluorescencia se puede asumir que es sólo debida al aumento de la movilidad dentro del filme, es decir, por efecto de plastificación del disolvente. La absorción total del disolvente medida después del equilibrio fue 21 mg, lo que supone el 14% en peso. Dadas las pequeñas dimensiones de las muestras y la velocidad del proceso, no fue posible realizar el análisis gravimétrico.

Sin embargo, cuando el aditivo es DANSino, se observa una continua disminución de la intensidad de emisión de fluorescencia, disminución que es más acusada a partir de los 30 minutos de inmersión, obteniéndose una curva con dos pendientes diferenciadas. Esto indica que hay dos procesos teniendo lugar de manera simultánea: el hinchamiento de la red polimérica y la extracción de la sonda. Después del hinchamiento ($t = 25 \text{ min}$), la disminución en la intensidad de fluorescencia es debida exclusivamente a la extracción de la sonda, y más rápida, ya que el cromóforo se extrae con mayor facilidad de la red completamente hinchada.

Asumiendo un mecanismo de Fick para el hinchamiento, se pueden estimar los coeficientes de difusión de acetonitrilo en esta red acrílica (Tabla 7.3).

Tabla 7.3. Coeficientes de difusión obtenidos a partir de medidas de fluorescencia de las sondas DANSino, P1000-DANS y H20-DANS durante la inmersión de los filmes acrílicos en acetonitrilo.

Sonda	D (cm ² /s)
DANSino	1.1 x 10 ⁻⁶
P1000-DANS	7.5 x 10 ⁻⁷
H20-DANS	3.5 x 10 ⁻⁷

Los valores obtenidos para las sondas hiperramificadas son muy concordantes, siendo el valor de la sonda monomérica ligeramente superior, hecho que se atribuye a que la liberación de esta sonda participa en la disminución de la intensidad de fluorescencia desde el inicio de la inmersión del filme.

En los tres filmes se midió la emisión de fluorescencia de las disoluciones en las que habían estado sumergidos. En el caso del filme de DANSino, se observó una banda de emisión intensa correspondiente al cromóforo DANSino en disolución, suceso no observado en los filmes aditivados con sonda polimérica. Esto indica la extracción del cromóforo de bajo peso molecular del seno de la matriz soporte desde el principio de la inmersión.

Se realizó un estudio de extracción de las sondas portadoras del cromóforo DANSino de los filmes HDDMA/HEMA a lo largo del tiempo, sumergiendo los filmes en acetonitrilo con agitación magnética, y midiendo a diversos intervalos la emisión de fluorescencia del disolvente. En la Figura 7.4 se muestran los resultados.

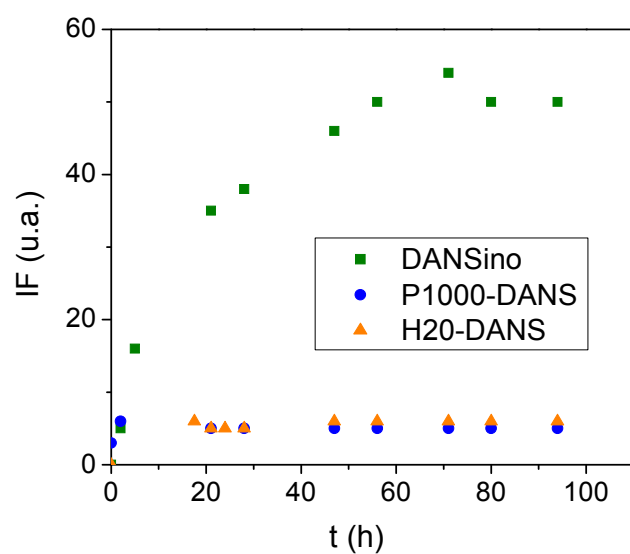


Figura 7.4. Variación de la emisión de fluorescencia del disolvente durante la inmersión de filmes acrílicos dopados con las sondas derivadas de dansilo en acetonitrilo ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$).

Se aprecia la extracción continua del DANSino de los filmes acrílicos desde el principio de la inmersión y de forma continua hasta las 70 h, mientras que la extracción de las sondas hiperramificadas es insignificante.

7.2.2. Detección de metales en disolución utilizando los filmes dopados con las sondas derivadas de naftalimida.

Se ensayaron diversas matrices acrílicas, variando la longitud de cadena de los monómeros y el entrecruzamiento. Se probaron también distintos tipos de sales metálicas (nitratos, sulfatos y acetatos), y en ninguno de los casos se consiguió respuesta en fluorescencia que detectara los cationes metálicos. Las referencias en la literatura utilizando soportes sólidos son prácticamente inexistentes, ya que los experimentos utilizan normalmente polímeros funcionalizados en disolución, por lo que se pensó en aplicar el concepto de transporte asistido o facilitado que se utiliza en electroquímica con matrices de PVC.

En las membranas de los sensores ópticos y potenciométricos se utiliza una matriz polimérica, que suele ser PVC plastificado de alto peso molecular, y un transportador de iones (“ion carrier”), también denominado frecuentemente aditivo aniónico (“anionic additive”) o ionóforo (“ionophore”). Esta molécula es de naturaleza orgánica y puede coordinar iones metálicos, facilitando su difusión al interior de la matriz, lo cual permite su unión al fluoróforo, permitiendo por tanto su detección.⁸

Uno de los transportadores más utilizados es el tetrakis(4-clorofenil)borato de potasio (KTpClPB):



Esquema 7.1. Transporte asistido o facilitado desde la fase acuosa a la membrana orgánica del catión metálico (M^{2+}) por el ionóforo $K^+TpClPB^-$ y su unión al fluoróforo (L).

En este Trabajo se prepararon filmes de PVC conteniendo tetrakis(4-clorofenil) borato de potasio como ionóforo, di(n-octil) ftalato (DOP) como plastificante y PVC de 112000 g/mol, en las condiciones descritas en la Parte Experimental.

⁸ Liu, Y.; Xue, Y.; Tang, H.; Wang, M.; Qin, Y., Click-immobilized K⁺-selective ionophore for potentiometric and optical sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, 171-172, 556-562.

Los filmes de PVC dopados con la sonda NAFTino se evaluaron en presencia de los iones Co^{2+} y Zn^{2+} en disolución. En la Figura 7.5 se muestran los máximos de intensidad de la emisión de fluorescencia con respecto al tiempo hasta alcanzar un valor constante, observándose un mayor incremento de la intensidad cuando el metal es zinc, lo que indica una mayor sensibilidad de la sonda a la presencia de este metal.

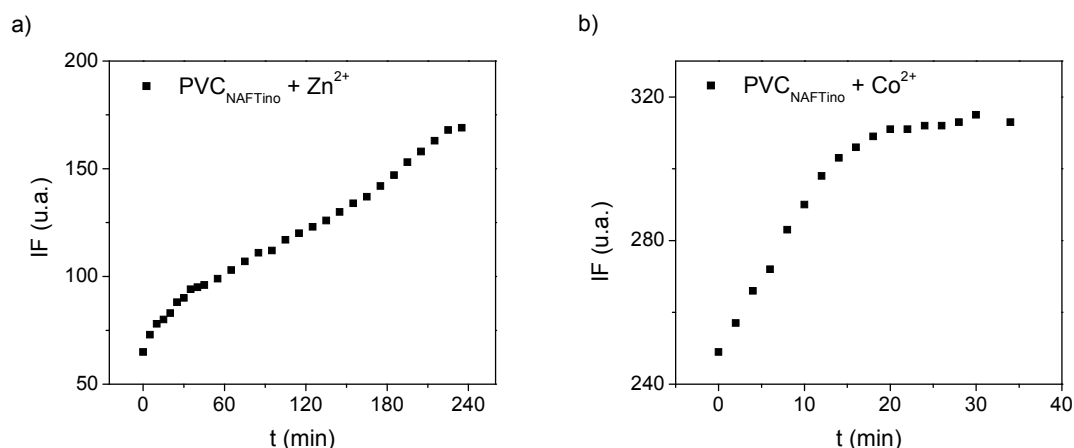


Figura 7.5. Variación de la intensidad de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$) de filmes de PVC dopados con NAFTino durante su inmersión en una disolución de a) $[\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ en ACN ($C=1 \times 10^{-6} \text{ M}$) y b) $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ en ACN ($C=2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$).

Del mismo modo, se evaluaron filmes de PVC dopados con la sonda P1000-NAFT en presencia de los iones Zn^{2+} , Hg^{2+} y Cu^{2+} en disolución. Se intentó medir la respuesta en inmersión en agua, pero el incremento de fluorescencia fue muy pequeño. Sin embargo, cuando la disolución de las sales se realizó en $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ 9:1 la respuesta fue satisfactoria (Figura 7.6).

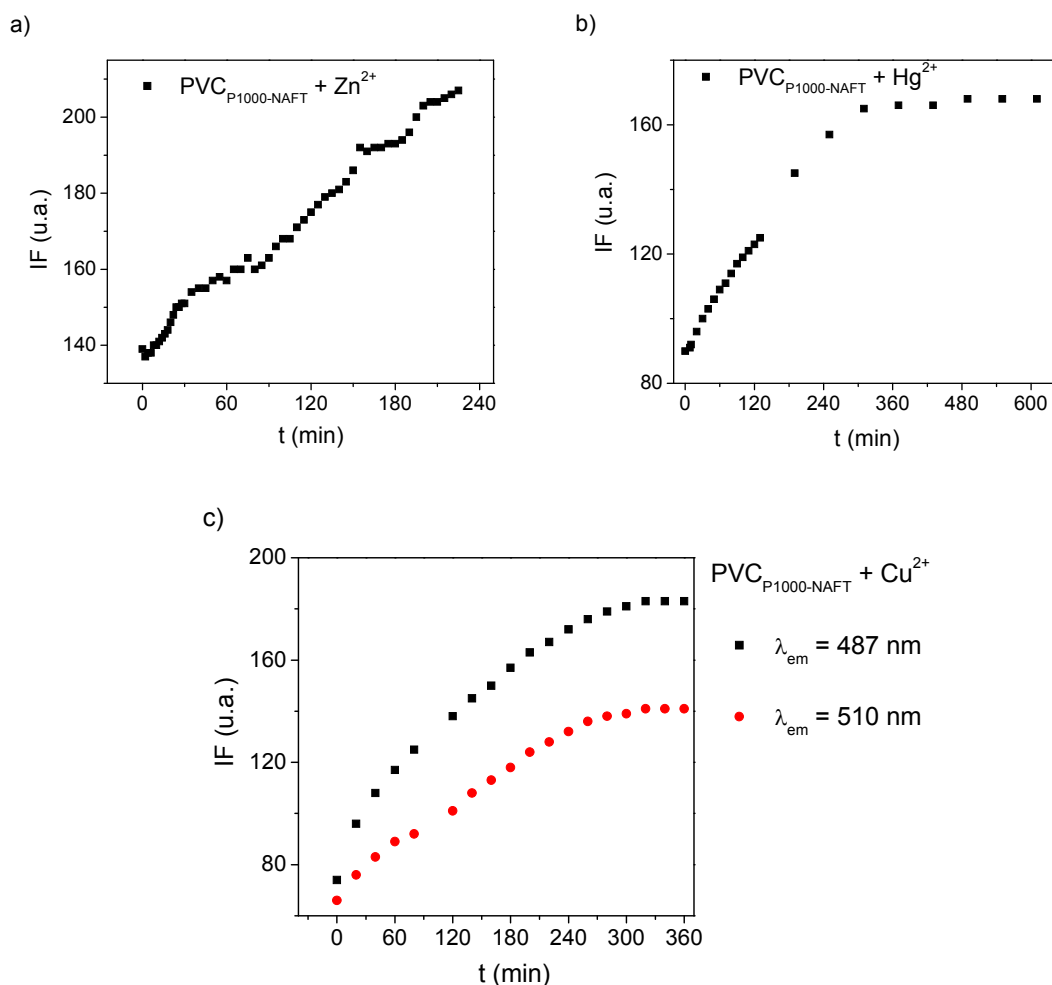


Figura 7.6. Máximos de emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 430$ nm) de filmes de PVC dopados con P1000-NAFT durante su inmersión en una disolución de a) $[Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O]$ en H_2O/ACN 9:1 ($C=5.3 \times 10^{-5}$ M), b) $HgCl_2$ en H_2O/ACN 9:1 ($C=4.1 \times 10^{-5}$ M) y c) $[CuCl_2 \cdot 2H_2O]$ en H_2O/ACN 9:1 ($C=4.1 \times 10^{-5}$ M).

La banda de emisión del cromóforo NAFT no se desplaza significativamente durante el proceso, pero en algunos casos se observó un ensanchamiento de la banda, por lo que se realizaron medidas a dos longitudes de onda (Figura 7.6.c). No se observaron diferencias en el proceso entre las medidas a las dos longitudes de onda, salvo una mayor sensibilidad cuando se mide en el máximo de emisión.

En todos los casos se obtuvieron valores del factor FE menores que los obtenidos para los mismos metales en disolución (Tabla 7.4). No obstante, es de resaltar que ésta es la primera vez que se describe la detección de metales en medios poliméricos por parte del cromóforo NAFT.

Tabla 7.4. Valores de FE para los filmes de PVC dopados con NAFTino y P1000-NAFT durante su inmersión en disoluciones de diversas sales metálicas.

Catión metálico	Sonda	FE
Zn ²⁺	NAFTino	2.6
Co ²⁺		1.3
Zn ²⁺	P1000-NAFT	1.5
Hg ²⁺		1.9
Cu ²⁺		2.5

En todos los casos, el proceso de detección es mucho más largo que en disolución, donde sucedía instantáneamente.

En la evaluación de los filmes de PVC como sensores se demostró que el uso del transportador es imprescindible para detectar los cationes metálicos, por lo que se amplió el estudio a matrices acrílicas, siguiendo la misma estrategia.

Son pocos los ejemplos de detección de iones en membranas acrílicas. L. Y. Heng y E. A. H. Hall pusieron de manifiesto que para evitar el uso de plastificante en las membranas era necesario que la matriz contuviera más del 80% en peso de acrilato de n-butilo.⁹ Años después comprobaron que la movilidad de los iones en membranas acrílicas-metacrílicas era aproximadamente mil veces menor que en las membranas de PVC plastificado.¹⁰

En este Trabajo se han utilizado para la preparación de filmes acrílicos los monómeros HDDMA/BuA 2:8, de baja T_g , incluyendo tetrakis(4-clorofenil)

⁹ Heng, L. Y.; Hall, E. A. H., Methacrylic–acrylic polymers in ion-selective membranes: achieving the right polymer recipe. *Analytica Chimica Acta* **2000**, 403 (1-2), 77-89.

¹⁰ Heng, L. Y.; Toth, K.; Hall, E. A. H., Ion-transport and diffusion coefficients of non-plasticised methacrylic–acrylic ion-selective membranes. *Talanta* **2004**, 63 (1), 73-87.

borato de potasio como ionóforo en la formulación. Las condiciones de preparación están descritas en la Parte Experimental.

En la Figura 7.7 se muestran las intensidades fluorescencia en el máximo de emisión ($\lambda_{em} = 500$ nm) representadas frente al tiempo para el caso de la matriz HDDMA/BuA 2:8, dopada con la sonda P1000-NAFT. Los valores de FE para el experimento con cada sal metálica se listan en la Tabla 7.5.

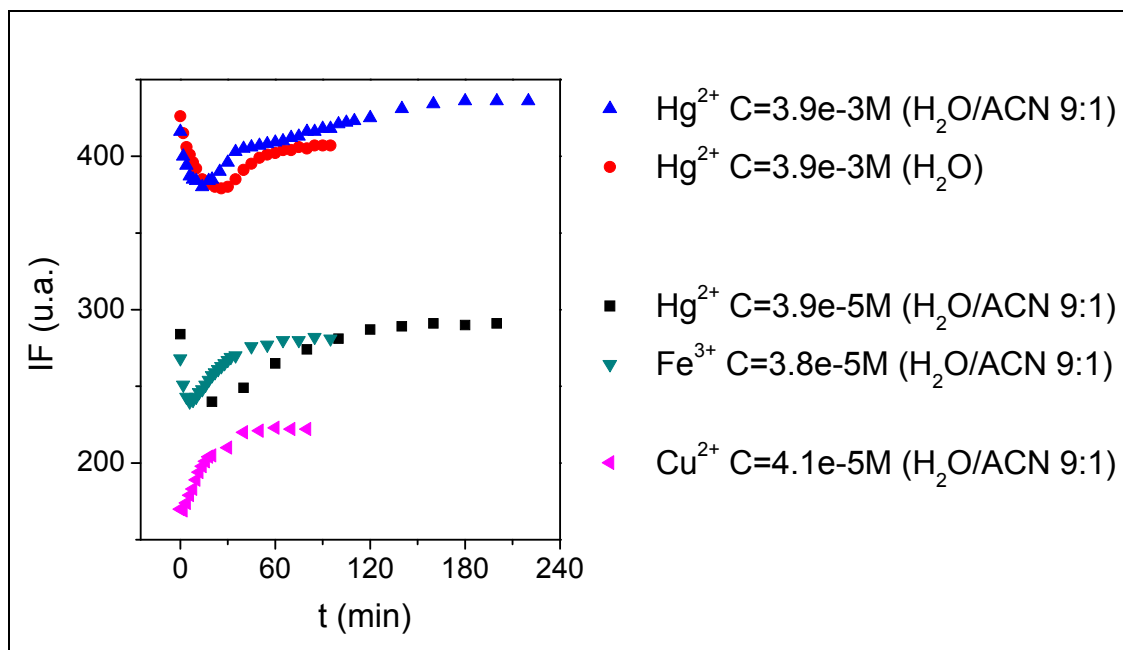


Figura 7.7. Máximos de emisión de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 430$ nm; $\lambda_{em} = 500$ nm) de filmes acrílicos HDDMA/BuA 2:8 dopados con P1000-NAFT durante su inmersión en disoluciones de $HgCl_2$, $[FeCl_3 \cdot 6H_2O]$ o $[CuCl_2 \cdot 2H_2O]$.

Tabla 7.5. Valores de FE para los filmes acrílicos HDDMA/BuA 2:8 dopados con P1000-NAFT durante su inmersión en disoluciones de diversas sales metálicas.

Catión metálico	C (M)	Disolvente	FE
Hg^{2+}	3.9e-3	H_2O	1.07
Hg^{2+}	3.9e-3	H_2O/ACN 9:1	1.14
Hg^{2+}	3.9e-5	H_2O/ACN 9:1	1.21
Fe^{2+}	3.8e-5	H_2O/ACN 9:1	1.17
Cu^{2+}	4.1e-5	H_2O/ACN 9:1	1.31

Las sales metálicas se disolvieron en dos medios diferentes: agua y agua/acetonitrilo 9:1 (en la Figura 7.7, puntos azules y rojos). Al añadir una fracción de disolvente orgánico se favorece la penetración de la disolución en la matriz acrílica, por lo que el proceso es más rápido y la sensibilidad (medida como FE) es mayor, por lo que se elige esta mezcla de disolventes como la más adecuada para la detección del metal.

En todos los casos se observa un descenso inicial de la IF, correspondiente al hinchamiento del filme, y posteriormente, dos pendientes durante el proceso de permeación, una de mayor valor, donde el proceso es más rápido, y otra más suave correspondiente a una estabilización o más posiblemente debido a una mayor dificultad de penetración de los cationes metálicos en el seno del filme, proceso que sería más lento que la penetración en las capas superficiales del mismo.

Se probaron dos concentraciones diferentes de sal, con dos órdenes de magnitud de diferencia. La sonda P1000-NAFT actuó como sensor en ambas, llegando incluso a detectar mercurio, hierro y cobre cuando el filme estaba inmerso en disoluciones de concentración 10^{-5} M. La sensibilidad a la detección de estos tres tipos de cationes metálicos fue similar, siendo ligeramente superior para el cobre.

Por último, se estudiaron los filmes epoxi de formulación HEDGE/Glicidol 3:2 dopados con la sonda P1000-NAFT. Esta es una matriz flexible e hidrófila, en la que se incluyó también el ionóforo, como en las matrices anteriores.

En la Figura 7.8 se observa el comportamiento de emisión de fluorescencia con respecto al tiempo cuando el filme está sumergido en una disolución de sal de cobre.

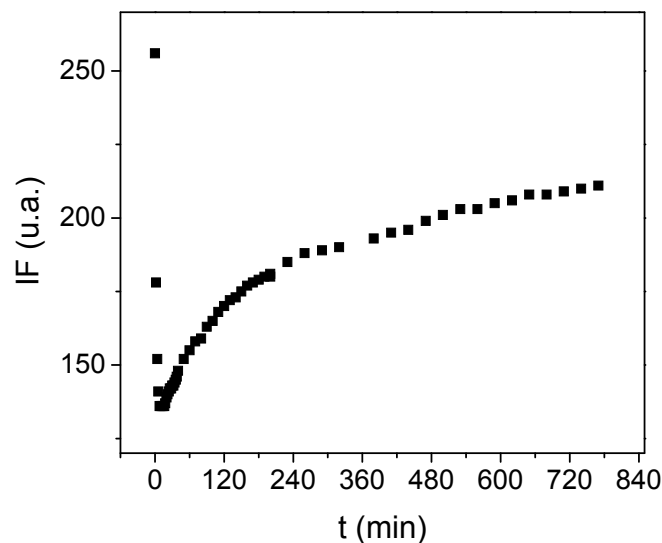


Figura 7.8. Máximos de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$) de filmes epoxídicos HEDGE/Glicidol 3:2 dopados con P1000-NAFT durante su inmersión en una disolución de $[\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ en $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ 9:1 ($C=4 \times 10^{-5} \text{ M}$).

En los minutos iniciales, se observa de nuevo el acusado descenso en la intensidad de fluorescencia debido al hinchamiento del filme. A continuación, la intensidad en el máximo de emisión aumenta progresivamente a medida que la sonda P1000-NAFT detecta los cationes metálicos en disolución. La sensibilidad durante el proceso de permeación que se pudo medir alcanzó un valor de $\text{FE} = 1.55$.

En ningún caso se llegó a obtener un verdadero *plateau* de saturación del cromóforo, y sin embargo hubo de suspender los experimentos por distorsión de los filmes, por lo que se puede asumir que el proceso de penetración del catión no se completó.

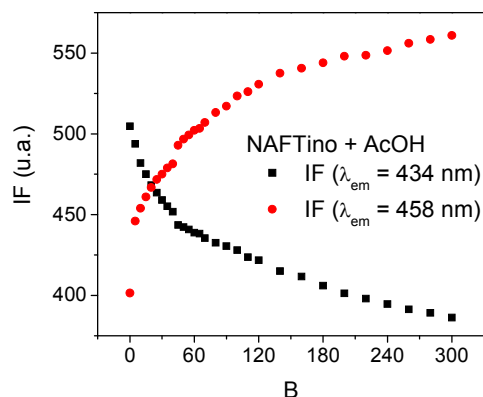
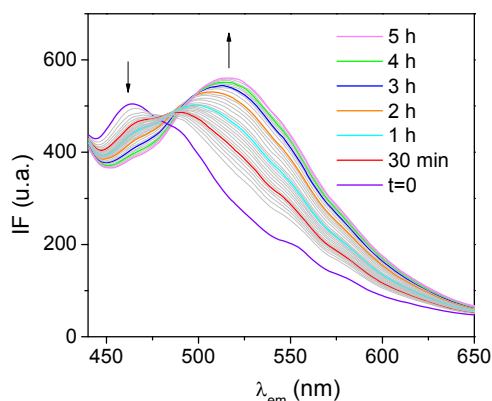
Aunque los tiempos de respuesta y los valores de FE obtenidos en este estudio están aún muy lejos de ser satisfactorios, es importante resaltar que no hay precedentes en la bibliografía para la detección de cationes utilizando este cromóforo en medios sólidos. Los resultados son muy prometedores y será necesario continuarlos mejorando la reacción de complejación del catión por el ionóforo. De esta manera, se acortarán los tiempos de detección y se aumentará el FE para estos procesos.

7.2.3. Detección de vapores ácidos utilizando los filmes dopados con las sondas derivadas de naftalimida y acridina.

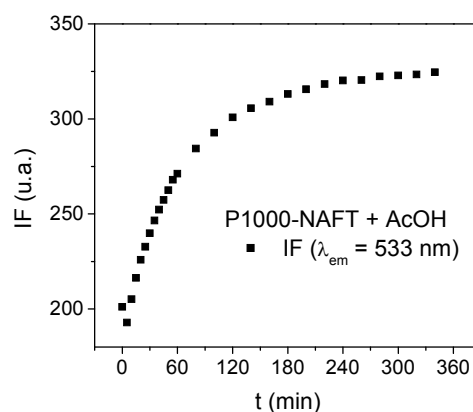
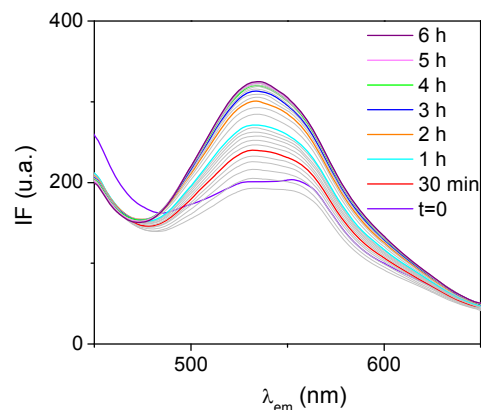
Se emplearon filmes de PE y acrílicos dopados con derivados de naftalimida y acridina se emplearon en la detección de analitos de carácter ácido, utilizando ácido acético como generador de vapores ácidos. El filme se introdujo en la diagonal de la cubeta de fluorescencia, se depositaron en el fondo 0.5 mL de ácido acético y se selló la cubeta, midiendo la respuesta del cromóforo a medida que se evaporaba el ácido hasta saturación, como se indica en la Parte Experimental.

En la Figura 7.9 los espectros de emisión y la intensidad en el máximo a diferentes tiempos, y en la Tabla 7.6 los valores de FE.

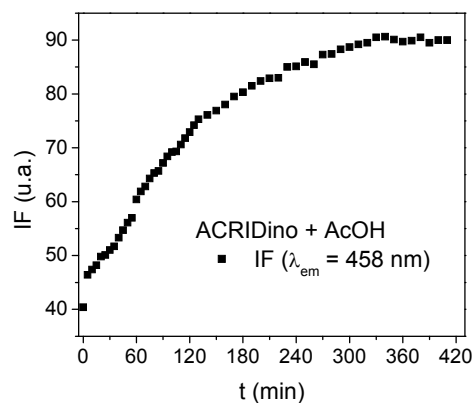
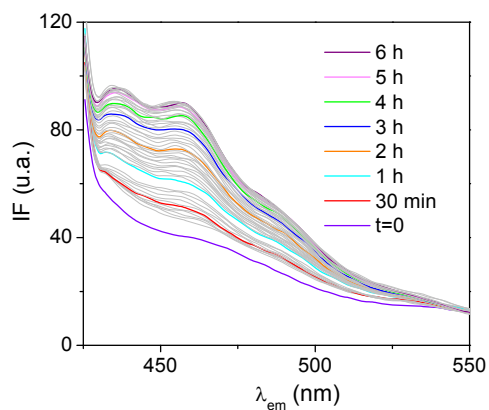
a) NAFTino + AcOH



b) P1000-NAFT + AcOH



c) ACRIDino + AcOH



d) P1000-ACRID + AcOH

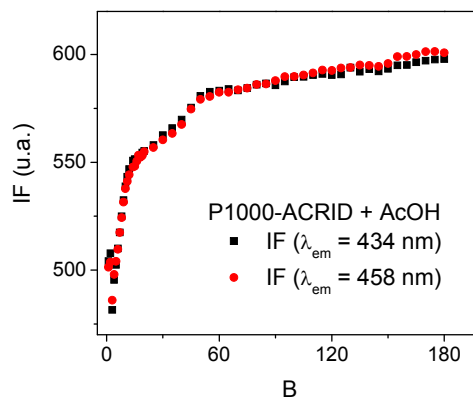
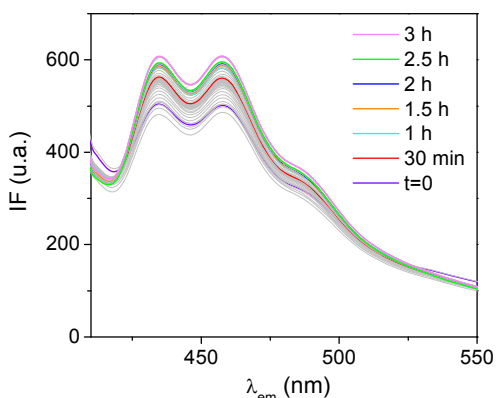


Figura 7.9. Espectros de fluorescencia en presencia de vapores de AcOH de los filmes de PE dopados con las sondas: a) NAFTino ($\lambda_{ex} = 430$ nm), b) P1000-NAFT ($\lambda_{ex} = 430$ nm), c) ACRIDino ($\lambda_{ex} = 400$ nm), d) P1000-ACRID ($\lambda_{ex} = 400$ nm).

Como se puede ver en la Figura 7.9, la intensidad de emisión de fluorescencia aumenta a medida que la concentración de vapores ácidos en el entorno es mayor.

En el caso de ACRIDino y P1000-ACRID, donde se observan sus tres picos característicos, los resultados son independientes de la banda en la que se mida.

Tabla 7.6. Valores de FE para los filmes de PE y acrílicos dopados con derivados de naftalimida y acridina durante su inmersión en disoluciones de diversas sales metálicas.

Sonda	Matriz	FE
NAFTino	PE	1.4
P1000-NAFT		1.6
ACRIDino		2.2
P1000-ACRID		1.2
ACRIDino	HDDMA/HEMA 1:1	1.8
P1000-ACRID		1.4

Del mismo modo, la sensibilidad de los filmes acrílicos HDDMA/HEMA 1:1 dopados con las sondas derivadas de acridina se evaluaron en presencia de vapores ácidos procedentes del ácido acético.

Los resultados se muestran en la Figura 7.10, donde se observa un incremento en el máximo de intensidad de la emisión de fluorescencia con la concentración de vapores ácidos.

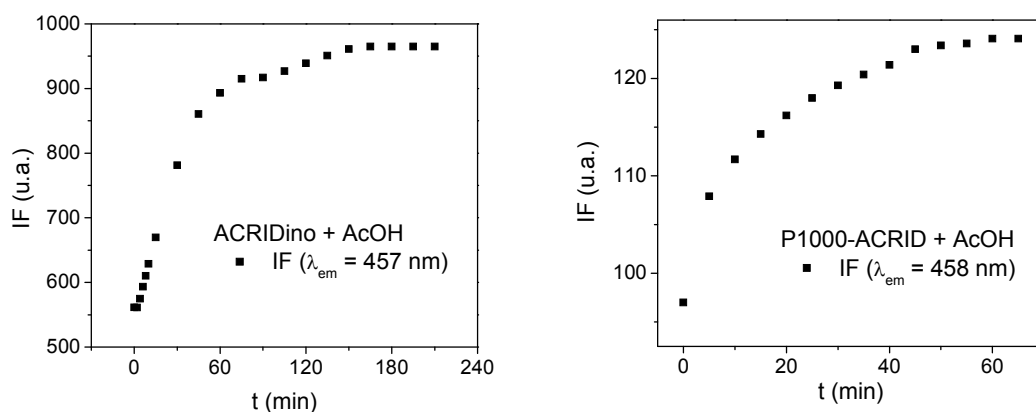


Figura 7.10. Espectros de fluorescencia de los filmes acrílicos con las sondas ACRIDino y P1000-ACRID ($\lambda_{ex} = 400$ nm) en presencia de vapores de AcOH.

En términos de sensibilidad, ACRIDino es más sensible que su correspondiente P1000-ACRID, ya que como sucedía en disolución, es capaz de protonarse dos veces.

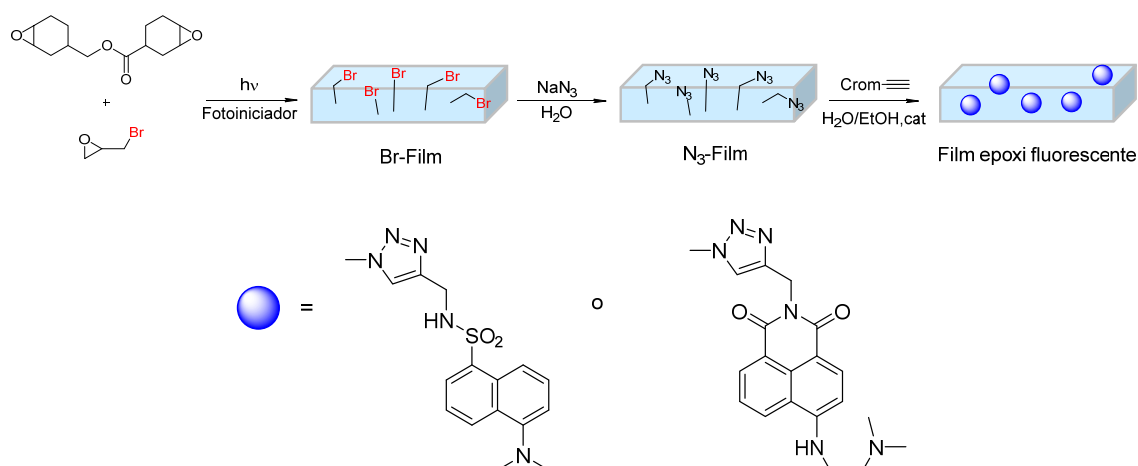
Si se comparan las matrices de PE y acrílicas, aunque ambas se pueden utilizar como sensores a vapores ácidos, son preferibles las matrices de PE, ya que en las matrices acrílicas los grupos éster presentes en la cadena de polímero también se protonan, siendo por tanto necesaria más cantidad de ácido para obtener la misma respuesta.

7.3. FILMES CON SONDAS ANCLADAS.

Tras ver que la sonda monomérica se extrae del filme en los tiempos del proceso a estudiar, aunque no así su correspondiente sonda hiperramificada, se utilizó como alternativa para evitar la exudación de la sonda el anclarla químicamente a la matriz polimérica. A continuación se detalla el estudio con filmes epoxi en los que se ha anclado la sonda monomérica (DANSino o NAFTino).

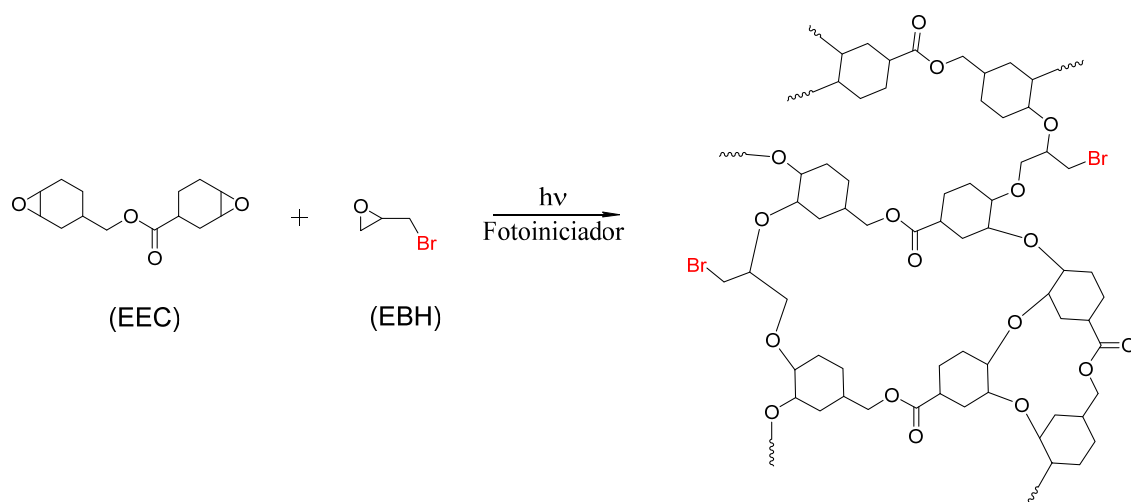
Como matriz polimérica se utilizó la formulación EEC/EBH, preparada tal y como se describe en la Parte Experimental. EEC se eligió como el monómero polimerizable catiónicamente, que puede formar redes reticuladas debido a los dos grupos epoxi presentes en su estructura, mientras que EBH se eligió como el monómero que contenía grupos bromometilo en su estructura. Se prepararon dos proporciones diferentes entre los monómeros, EEC/EBH 70:30 y 80:20.

Los filmes de resina epoxídica se prepararon siguiendo una estrategia sintética de tres reacciones consecutivas: fotopolimerización de una resina epoxi, transformación de los grupos bromo en grupos azida y reacción click entre los filmes epoxi y las sondas fluorescentes. En el Esquema 7.2 se muestra el proceso completo de funcionalización de los filmes epoxi.



Esquema 7.2. Representación esquemática de la funcionalización de los filmes curados EEC/EBH.

En el Esquema 7.3 se detalla la reacción de curado UV donde la EBH copolimeriza con la resina EEC a través de la polimerización por apertura de anillo, que se activa gracias al ácido de Brönsted fotogenerado.



Esquema 7.3. Reacción de fotopolimerización del sistema epoxídico.

El progreso de la fotopolimerización se siguió por FTIR en tiempo real a través de la variación del área de la banda IR del grupo epoxi. Las curvas de conversión en función del tiempo de irradiación se muestran en la Figura 7.11.

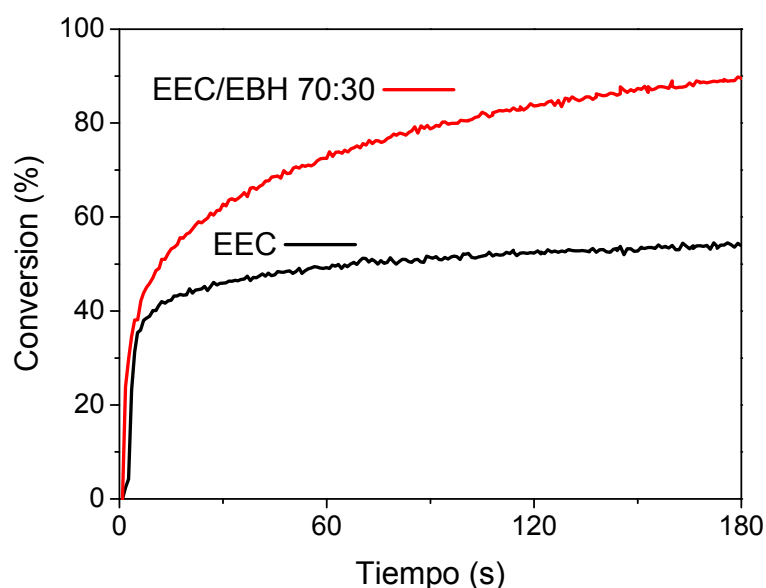


Figura 7.11. Espectros FTIR en tiempo real en función del tiempo de irradiación para la resina epoxi EEC pura, la formulación EEC/EBH en ausencia y en presencia del cromóforo DANSino.

La polimerización es bastante eficiente y casi completa después de 120 segundos de irradiación. Como era de esperar, la presencia de EBH como comonomero provoca un incremento en la conversión del grupo epoxi. Este comportamiento se atribuye a la mayor movilidad de las especies reactivas por retardo de la vitrificación de la red, ya que la presencia del monómero monofuncional reduce la densidad de reticulación.

Tras la irradiación, todos los filmes eran completamente transparentes y mostraron valores de contenido en gel elevados, por encima del 98%. Esto indica la ausencia de monómeros y oligómeros extraíbles y la formación de una red polimérica altamente reticulada.

A continuación los filmes se sometieron a la reacción de azidación y la eficiencia de la funcionalización se estudió por espectroscopia IR. Se registraron los espectros de FTIR de los filmes modificados con azida observándose un pico intenso a 2100 cm^{-1} , característico de la tensión asimétrica del grupo azida. A modo de ejemplo, en la Figura 7.12, se muestran los espectros para la formulación EEC/EBH 80:20.

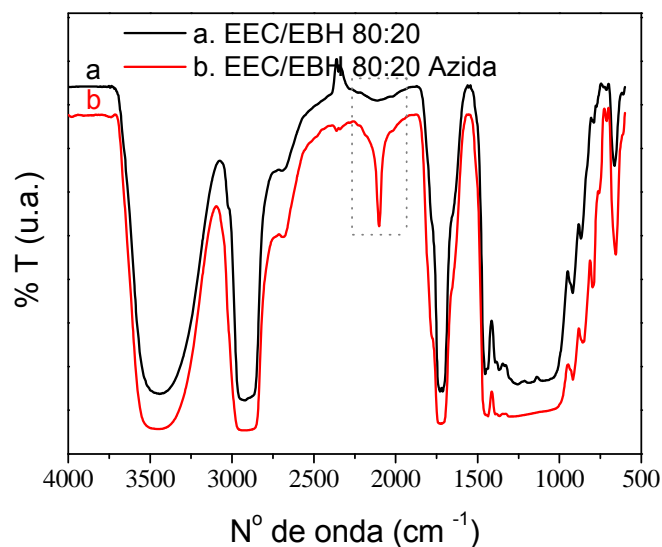


Figura 7.12. Espectros FTIR de (a) filme epoxi de formulación EEC/EBH 80:20 y (b) su correspondiente filme epoxi modificado con grupos azida.

Tras la reacción de azidación, se observó que los filmes con 30% de contenido en EBH tendían a doblarse (aunque este efecto podía controlarse en función del espesor de los filmes) y los filmes con 20% de contenido en EBH tendían a romperse fácilmente. Por ello, se eligieron los filmes EEC/EBH 70:30 para las posteriores funcionalizaciones con los cromóforos DANSino y NAFTino.

Los espectros FTIR de los productos de los tres pasos de funcionalización de la formulación EEC/EBH 70:30 se muestran en la Figura 7.13.

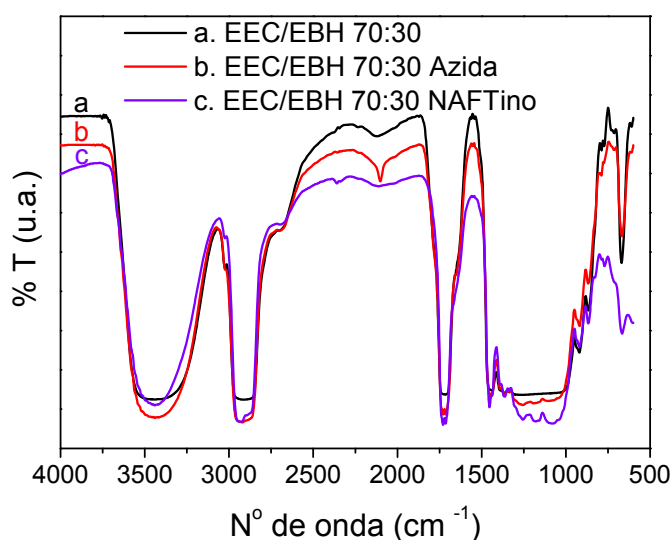


Figura 7.13. Espectros FTIR de los filmes curados EEC/EBH 70:30 funcionalizados con (a) grupos bromo, (b) grupos azida y (c) cromóforos NAFTino.

Comparando la región a 2100 cm^{-1} , se observa la completa desaparición del pico de la azida tras la reacción click, de lo que se concluye que los grupos azida reaccionan cuantitativamente con los grupos alquino del cromóforo NAFTino. Esto evidencia que el cromóforo ha reaccionado cuantitativamente con los grupos azida, y que esta incorporación química se ha dado en toda la matriz y no sólo en la superficie.¹¹

A pesar de que los filmes epoxi estuvieran altamente reticulados, la inmersión de los filmes (en agua para la azidación y en mezcla agua/etanol para la reacción click) provocó, a la vista de los resultados, un hinchamiento suficiente de las redes como para que se llevaran a cabo las funcionalizaciones de manera satisfactoria.

Con el fin de confirmar la modificación química de la resina epoxi con los cromóforos DANSino y NAFTino, se midió la emisión de fluorescencia de todos los filmes.

Como experimento control, el filme epoxi se sumergió en una disolución de cromóforo en etanol durante 5 días y con agitación magnética (EEC/EBH 70:30 Abs NAFTino). Después, se sumergió en etanol puro por otros cinco días, tras lo cual se sometió a las mismas condiciones de medida que los demás filmes. Durante este tiempo se registró la emisión de fluorescencia regularmente observándose en el disolvente un aumento progresivo en la intensidad de la banda de emisión del NAFT. Este hecho confirmó la existencia de un proceso de extracción no deseado que tiene lugar cuando el filme está dopado con la sonda monocromofórica, incluso cuando la densidad de entrecruzamiento de las redes es muy alta.

¹¹ Durmaz, Y. Y.; Sangermano, M.; Yagci, Y., Surface modification of UV-cured epoxy resins by click chemistry. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48 (13), 2862-2868.

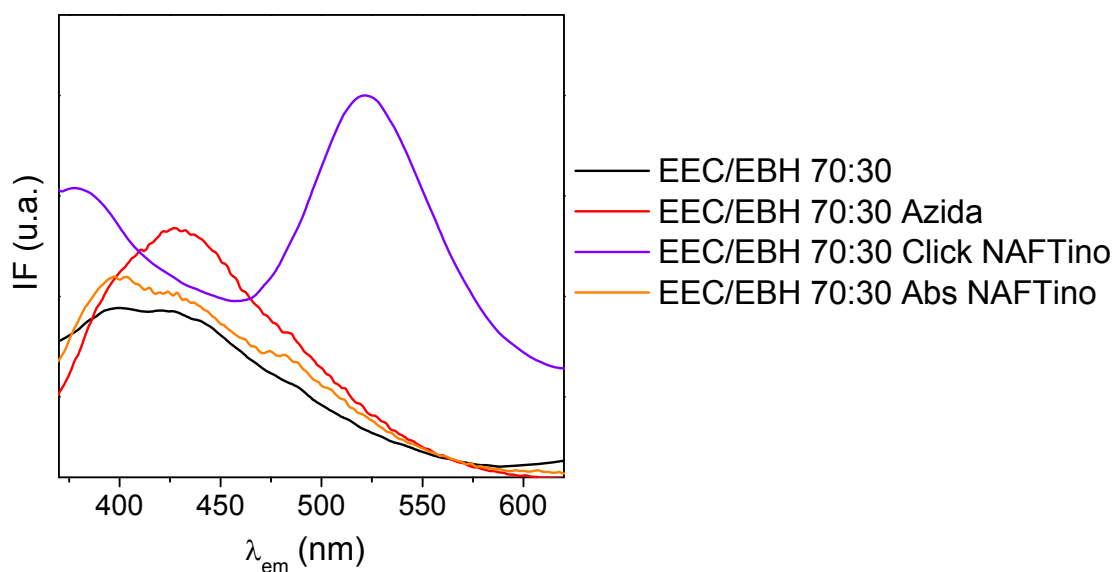


Figura 7.14. Espectros de emisión de fluorescencia para los filmes antes y después de la funcionalización con NAFTino y para el filme control en el que el cromóforo está absorbido ($\lambda_{\text{ex}} = 335 \text{ nm}$).

En la Figura 7.14 se puede ver que el filme-NAFT tiene un máximo de emisión a 520 nm, correspondiente a la emisión del cromóforo NAFT, hecho que no sucede en el experimento control. Esto demuestra que las propiedades espectroscópicas del filme-NAFT son debidas a la unión química del cromóforo a la matriz polimérica, no pudiéndose atribuir a la absorción física del cromóforo en dicha matriz.

En el caso del cromóforo DANSino se siguió un procedimiento equivalente. El filme-DANS mostró una emisión de fluorescencia intensa con máximo a 480 nm, confirmándose la presencia del cromóforo dansilo unido químicamente a la matriz polimérica (Figura 7.15).

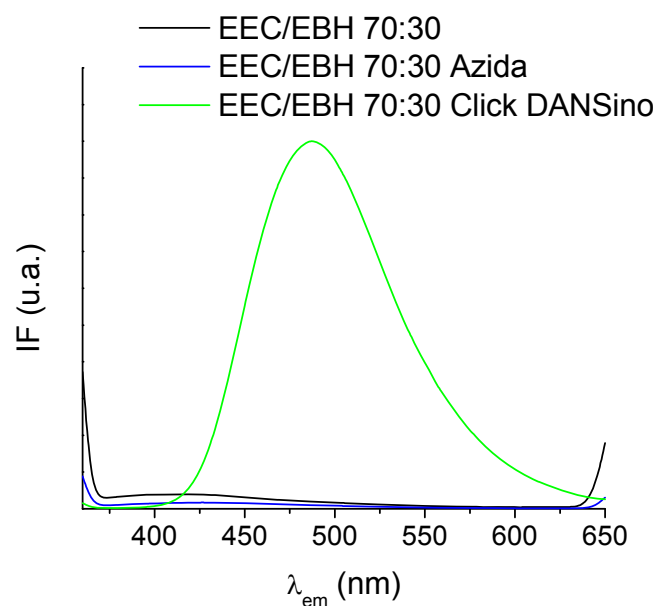


Figura 7.15. Espectros de emisión de fluorescencia para los filmes antes y después de la funcionalización con DANSino ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$).

Como se ha demostrado previamente, el cromóforo DANSino es muy sensible a los cambios de polaridad, por lo que se llevó a cabo el estudio de las características espectroscópicas de absorción UV-Vis y fluorescencia de los filmes-DANS en una amplia variedad de disolventes, incluyendo los de tipo apolar, polar próticos y polar apróticos (Figura 7.16 y Tabla 7.7).

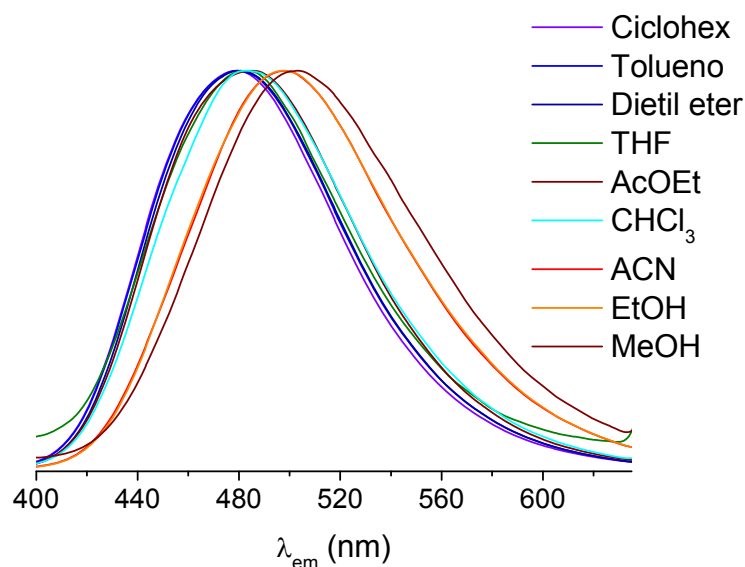


Figura 7.16. Espectros de emisión de fluorescencia del filme-DANS en diferentes disolventes ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$).

Tabla 7.7. Resultados espectroscópicos para filme-DANS en diferentes disolventes.

Disolvente	E_T30 (kcal/mol)	DANSino		Filme-DANS	
		λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	λ_{abs} (nm)	$\lambda_{em}(nm)$
En seco	-	-	-	340	480
Ciclohexano	30.9	337	451	339	479
Tolueno	33.9	341	487	340	483
Dietil éter (Et ₂ O)	34.5	335	484	340	480
Tetrahidrofurano (THF)	37.4	336	497	340	483
Acetato de etilo (AcOEt)	38.1	337	500	339	485
Cloroformo (CHCl ₃)	39.1	344	499	340	483
Acetonitrilo (ACN)	45.6	340	526	341	499
Etanol (EtOH)	51.9	335	523	336	497
Metanol (MeOH)	55.4	335	528	336	503

El filme-DANS seco mostró un máximo de absorción a 340 nm y un máximo de emisión de fluorescencia a 480 nm. Tras sumergir los filmes-DANS en los diversos disolventes durante 3 h, se registraron los espectros de fluorescencia observándose dos comportamientos diferentes. En disolventes apolares (ciclohexano y éter) no se observó desplazamiento de la banda de emisión, probablemente debido a que no se da la permeación en el filme. En disolventes de polaridad intermedia, el desplazamiento de la banda de emisión fue muy pequeño con respecto al filme seco (de hasta 5 nm), indicando poca variación de la polaridad en el microentorno del cromóforo anclado a la red. Sin embargo, en disolventes polares, y especialmente en los próticos, se observó un claro desplazamiento de la banda de emisión hacia el rojo, aunque en ninguno de los casos se alcanzó el valor del máximo obtenido para el cromóforo libre en el mismo disolvente. Esto es debido a que cuando el sensor

está anclado a una red rígida, no es posible la solvatación completa de los estados fundamental y excitado.

El desplazamiento total en el filme es de 24 nm.

El comportamiento solvatocrómico del filme-DANS se estudió mediante la escala empírica $E_T(30)$ (Figura 7.17).

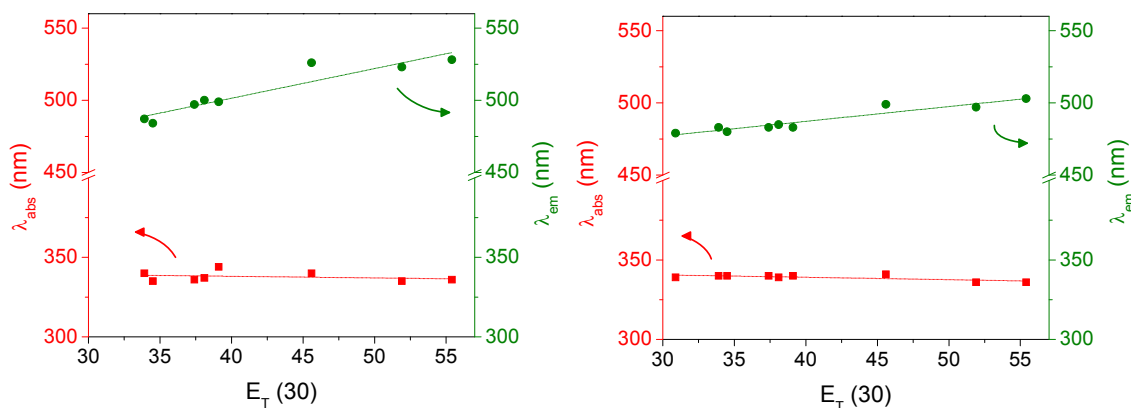


Figura 7.17. Correlación entre las longitudes de onda en los máximos de emisión de fluorescencia y la escala $E_T(30)$ para el cromóforo DANSino en disolución e injertado en el filme epoxi, en diferentes disolventes ($\lambda_{ex} = 340$ nm).

Se observa que un comportamiento similar del cromóforo libre y el anclado, sin variación solvatocrómica en la absorción pero con una alta sensibilidad en la emisión. Del valor de las pendientes en los gráficos de emisión se obtiene la sensibilidad a la polaridad del medio, siendo la mitad para el filme que para el cromóforo libre, de 1.02 frente a 2.05, respectivamente, aunque mostrando también el filme-DANS unas buenas propiedades espectroscópicas para utilizarlo como sensor de polaridad.

Adicionalmente, se siguió por fluorescencia el proceso de difusión del disolvente metanol a través del filme-DANS. Este disolvente se eligió por ser en el que se observó el mayor desplazamiento de la banda de emisión con respecto al filme seco. La variación de fluorescencia se analizó con la relación de intensidades a dos longitudes de onda, IF_2/IF_1 , en lugar del máximo de la banda de emisión (IF).

El coeficiente de difusión se obtuvo a partir de los datos de emisión de fluorescencia en diferentes tiempos (Figura 7.18).

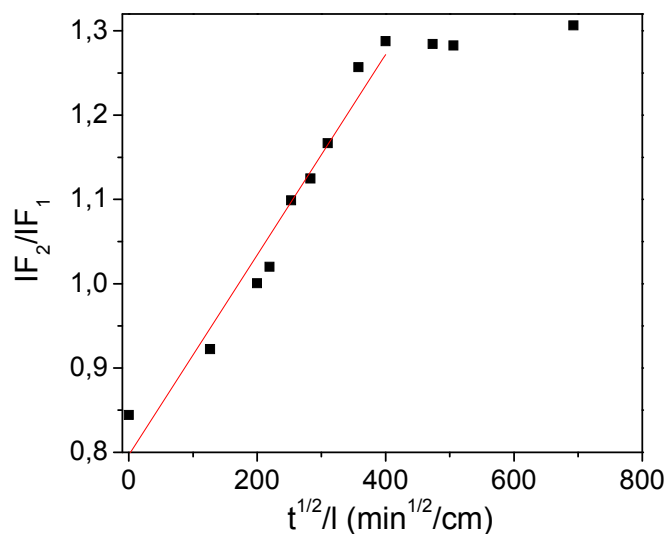


Figura 7.18. Representación de la variación de intensidad de fluorescencia del filme-DANS frente a $t^{1/2}/l$ durante la inmersión del filme en metanol ($\lambda_{em}(IF_1) = 530$ nm; $\lambda_{em}(IF_2) = 475$ nm).

A partir de la pendiente de la curva y la Ecuación 7.1, se obtiene el coeficiente de difusión para el sistema resina epoxi/metanol, $D = 1.85 \times 10^{-8}$ cm²/s.

No ha sido posible comparar este valor con el determinado por gravimetría debido a las pequeñas dimensiones de las muestras, pero se han comparado con otros valores en sistemas epoxi hinchados en metanol y los valores son concordantes.¹²

Para el filme con la sonda anclada se midió también el espectro de fluorescencia de la disolución al final del estudio de difusión, sin observar fluorescencia a partir del disolvente, lo que confirmó que la sonda no se extrajo durante el proceso.

¹² (a) Kaplan, M. L., Solvent penetration in cured epoxy networks. *Polymer Engineering & Science* **1991**, 31 (10), 689-698, (b) Sahlin, J. J.; Peppas, N. A., Penetrant Transport in Epoxy Resins *Ind. Eng. Chem. Res.* **1991**, 30 (1), 211-217.

7.4. FUNCIONALIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICE CON SONDAS FLUORESCENTES.

Se realizó la modificación superficial de nanopartículas de sílice comerciales (Np) con las sondas monocromofóricas DANSino y NAFTino. Después, se evaluó su respuesta a la presencia de metales catiónicos y especies ácidas en disolución.

Existen dos estrategias para funcionalizar la superficie de nanopartículas de sílice: la funcionalización post-sintética (grafting) y la síntesis directa (co-condensación).¹³

En nuestro caso se utilizaron Np de sílice comerciales (diámetro=7 nm, área superficial=380 m²/g), por lo que se eligió la primera aproximación. Siguiendo la estrategia sintética utilizada en este Trabajo, se funcionalizaron las partículas con grupos azida y posteriormente se anclaron covalentemente los cromóforos a la superficie de las partículas empleando la reacción “click” catalizada por Cu, tal y como se esquematiza en la Figura 7.19.

La introducción de grupos de Br reactivos se realizó utilizando 3-bromopropiltrimetoxisilano como reactivo. Posteriormente, la sustitución de los bromos por grupos azida se realizó en suspensión acuosa con azida sódica y a continuación se sometió a las partículas a reacción click con el cromóforo deseado. Entre cada paso de síntesis se somete a las partículas a ciclos sucesivos de lavado y centrifugación.

¹³ Li, N.; Binder, W. H., Click-chemistry for nanoparticle-modification. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, 21 (42), 16717-16734.

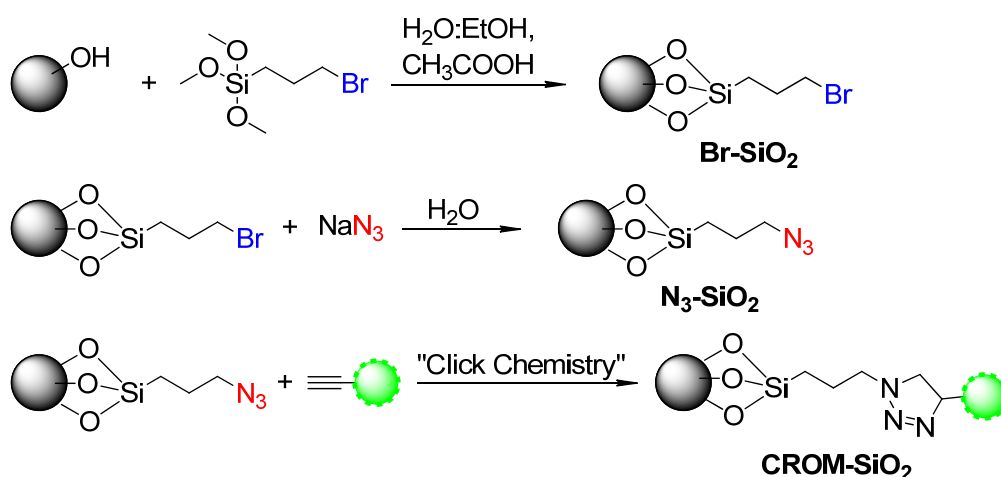


Figura 7.19. Representación esquemática de la funcionalización de las nanopartículas de sílice.

Las partículas de sílice funcionalizadas se analizaron por espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), espectroscopia de rayos X (XPS), microscopia electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia de fluorescencia.

Después de la introducción del cromóforo, la ausencia completa de grupos azida en las partículas CROM-SiO_2 se confirmó mediante espectroscopia FTIR-ATR por la desaparición total del pico a 2050 cm^{-1} , correspondiente a la tensión asimétrica del enlace azida, como se muestra a modo de ejemplo en la Figura 7.20, para el caso de DANS-SiO_2 .

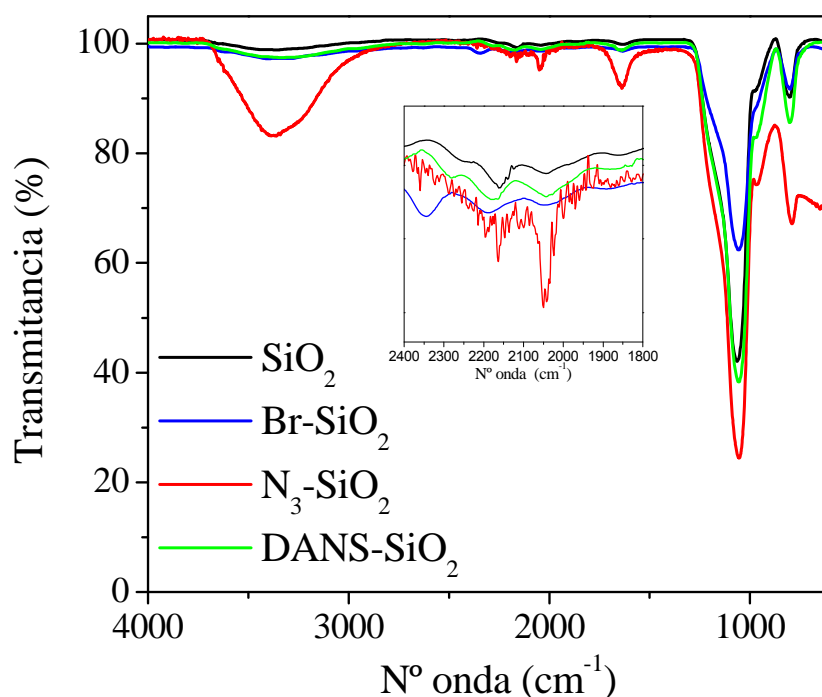


Figura 7.20. Espectros FT-IR-ATR de las nanopartículas de sílice SiO_2 y las partículas funcionalizadas Br-SiO_2 , $\text{N}_3\text{-SiO}_2$ y DANS-SiO_2 .

Además, se observa una banda ancha e intensa a 1050 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión del Si-O y una banda ancha en la región de 3700 a 3000 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión del OH unido a Si.

Las partículas se caracterizaron por XPS para obtener información sobre su composición química y estructura electrónica. Además, estos datos complementaron las medidas por FTIR-ATR, proporcionando completa evidencia de la modificación deseada.

En la Figura 7.21 se muestran los espectros XPS para Br-SiO_2 y DANS-SiO_2 .

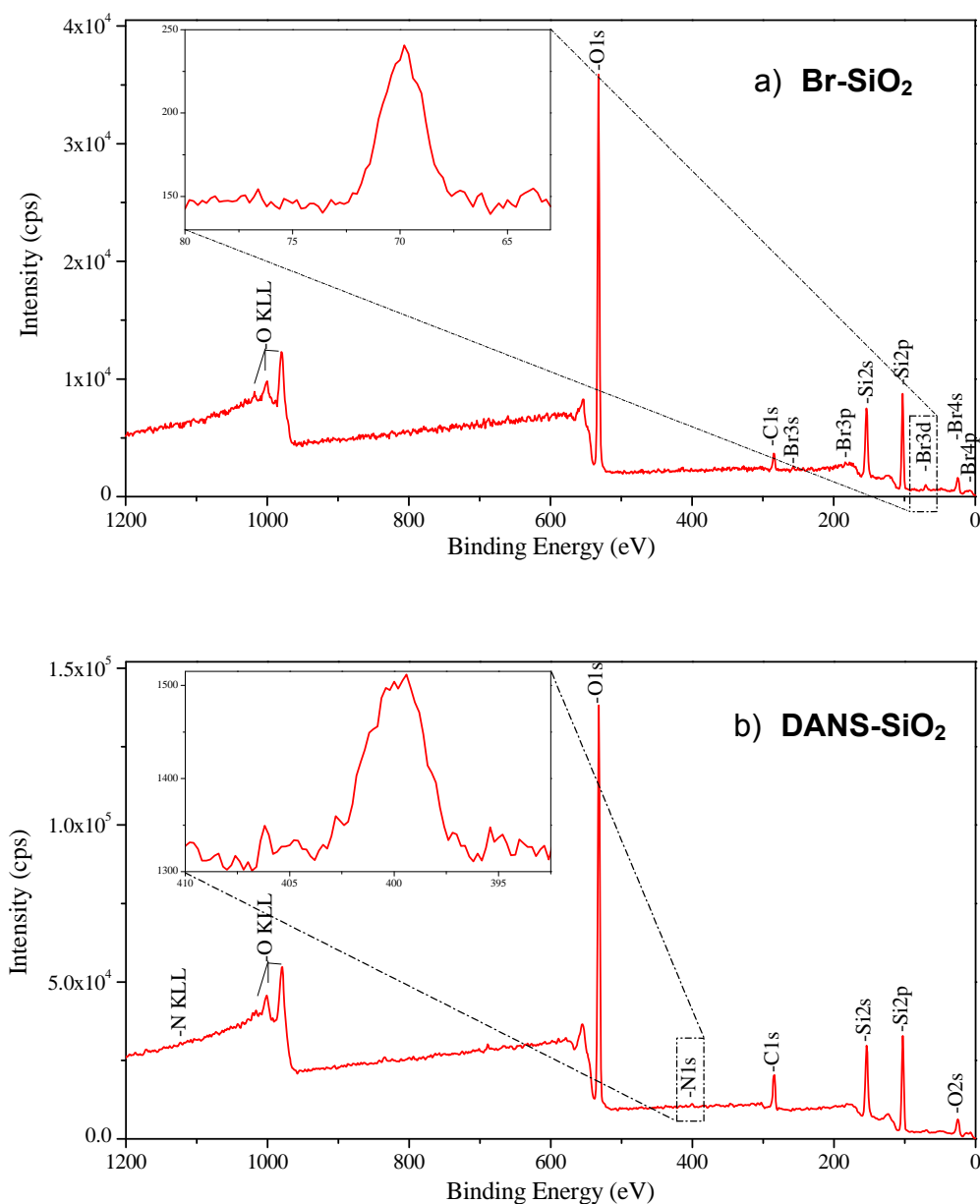


Figura 7.21. Espectros XPS para las partículas Br-SiO₂ (arriba) y DANS-SiO₂ (abajo).

Se identifican los picos característicos del bromo, viéndose con mayor claridad en el recuadro ampliado el correspondiente al nivel electrónico Br [3d] a 70 eV. Esto indica la funcionalización con grupos bromuro de las Np.

La Figura 7.21.b muestra el espectro XPS para las partículas DANS-SiO₂. No se observan los picos característicos del bromo, por lo que el segundo paso de reacción se llevó a cabo con funcionalización completa de todos los grupos bromo a grupos azida. En el espectro no se observa el pico N [1s], característico de un grupo azida, que se suele presentar con dos componentes

que se diferencian muy claramente.¹⁴ En cambio, se observa un pico único de nitrógeno detectado a 400 eV (ampliado en la figura), correspondiente a la formación del triazol. Esto confirma la completa funcionalización de los grupos azida y el anclaje del cromóforo a la partícula. Además, se confirma la ausencia de trazas de cobre (utilizado como catalizador de la reacción) en las Np finales por la ausencia del pico Cu [2p] en 932 eV.

Se realizó el estudio de la sensibilidad de las Np funcionalizadas frente a los estímulos que previamente se estudiaron en disolución. Las medidas se realizaron por triplicado dispersando las partículas en los disolventes, y evitando la deposición de las mismas.

Se registraron los espectros de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$) de las partículas DANS-SiO₂ en disolventes de diferente polaridad (ciclohexano, cloroformo y etanol).

En la Tabla 7.8 se indican los desplazamientos del máximo de emisión de DANS-SiO₂ dispersadas en dichos disolventes.

Tabla 7.8. Longitudes de onda correspondientes al máximo de emisión (λ_{em} , nm) de los filmes dopados con sondas derivadas de dansilo, en seco y sumergidos en diferentes disolventes

Disolvente	Ciclohexano	CHCl ₃	EtOH
λ_{em} (DANS-SiO ₂), nm	450	507	521

Cuando la sonda DANSino está anclada a la superficie de las Np, la solvatación del disolvente es suficiente para que la banda tenga su máximo de emisión situado en la misma posición que en disolución.

¹⁴ Prakash, S.; Long, T. M.; Selby, J. C.; Moore, J. S.; Shannon, M. A., "Click" Modification of Silica Surfaces and Glass Microfluidic Channels. *Analytical Chemistry* **2007**, 79 (4), 1661-1667.

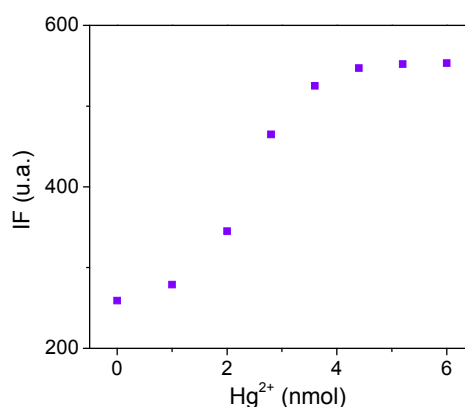
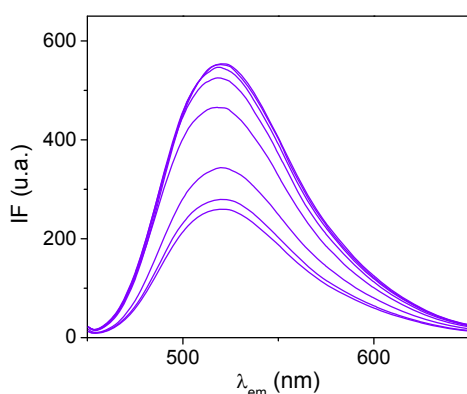
7.4.1. Sensibilidad de las partículas a metales (M^{n+}) y especies ácidas (H^+) en disolución.

Se ha realizado el estudio de sensibilidad de las Np funcionalizadas con la sonda NAFTino a cationes metálicos en disolución, para lo que se utilizaron disoluciones de las sales metálicas $[Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O]$ y $HgCl_2$ en H_2O/ACN 9:1, en concentraciones de 4×10^{-5} M.

Las partículas NAFT-SiO₂ (1 mg) se dispersaron en acetonitrilo y se evaluaron en presencia de los cationes metálicos Hg^{2+} y Zn^{2+} en disolución, añadiendo alícuotas de disolución de metal hasta alcanzar un valor máximo de emisión de fluorescencia constante.

Los espectros de emisión de fluorescencia en función del volumen añadido se muestran en las Figuras 7.22.

a) NAFT-SiO₂ + Hg^{2+}



b) NAFT-SiO₂ + Zn^{2+}

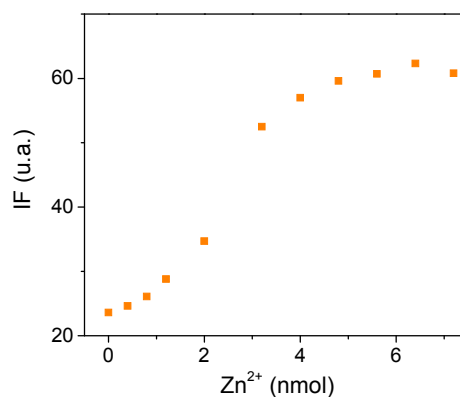
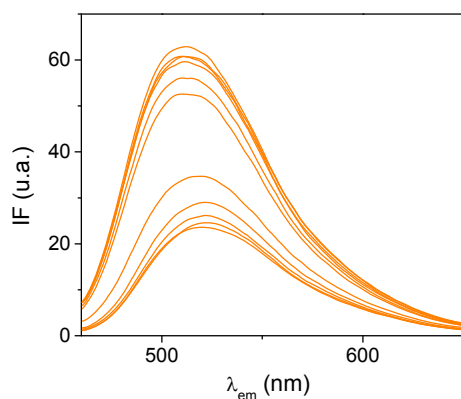


Figura 7.22. Variación de los espectros de emisión de fluorescencia de las partículas NAFT-SiO₂ dispersadas en acetonitrilo ($\lambda_{\text{ex}} = 433 \text{ nm}$) durante la adición de alícuotas de las sales (a) HgCl₂ y (b) [Zn(ClO₄)₂·6H₂O], C=4x10⁻⁵ M en disolución de H₂O/ACN 9:1.

El proceso de detección fue rápido, necesitando tan sólo unos dos minutos hasta obtener valores de intensidad de emisión constantes después de cada adición de alícuota.

La variación de la fluorescencia con la adición de metales tiene una forma sigmoideal, como sucedía en disolución, y un valor umbral de detección de 1 nmol para Hg y 0.4 nmol para Zn, correspondiente con la primera adición, cuyo volumen fue diferente en ambos casos, de 25 y 10 μL respectivamente, por lo que no son comparables. En ambos casos, la IF alcanza un máximo cuando cada molécula de cromóforo se compleja con un catión metálico. Dado que la coordinación de cromóforo y metal es equimolecular, y el *plateau* se observa en 5 nmoles de catión metálico, se puede deducir a partir de las medidas de fluorescencia que la cantidad de cromóforo presente en la superficie de 1 mg de nanopartículas es también de 5 nmoles.

El factor de sensibilidad (FE) calculado para Hg(II) fue de 2.1 y para Zn(II) de 2.6. Estos valores son más bajos (más de la mitad) que los obtenidos para la sonda NAFTino en disolución, pero suficientemente buenos para detectar cationes metálicos en disolución.

Se ha estudiado la respuesta de las partículas funcionalizadas con NAFTino a la presencia de especies ácidas en disolución, para lo que se ha utilizado ácido trifluoroacético (TFA).

Las partículas NAFT-SiO₂ se dispersaron en acetonitrilo y se añadieron alícuotas de TFA 10⁻⁴ M en acetonitrilo hasta alcanzar un valor máximo de emisión de fluorescencia constante.

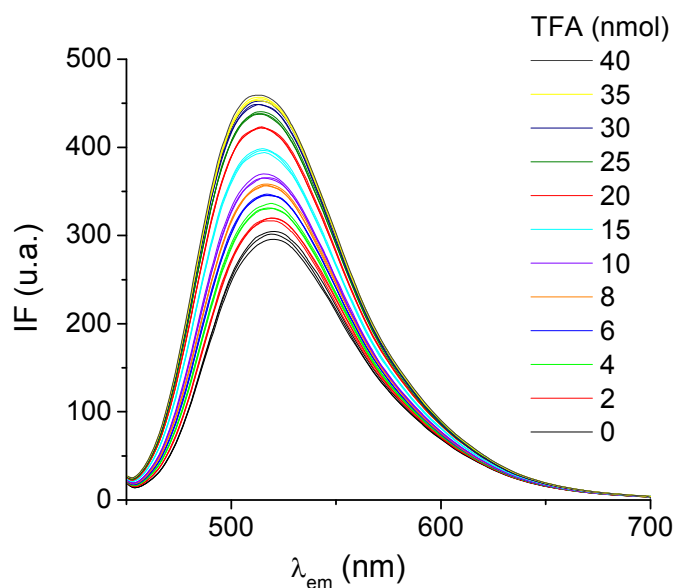


Figura 7.23. Variación de la banda de emisión de fluorescencia ($\lambda_{\text{ex}} = 433 \text{ nm}$) de las partículas NAFT-SiO₂ dispersadas en acetonitrilo durante la adición de TFA 10^{-4} M en acetonitrilo.

Dado que el cromóforo NAFTino posee dos puntos protonables en su estructura, sería de esperar que la adición de ácido produjera la protonación de ambos átomos de nitrógeno. Pero esa no fue la respuesta observada, ya que se necesitó una mayor cantidad de ácido para alcanzar la saturación de las partículas (35 nmol). Además, el FE calculado fue de 1.55, mucho más bajo que para el caso de cationes metálicos. Esto puede ser debido a que no sólo el cromóforo se protona, sino también la superficie de la sílice, por lo que con estas partículas no es posible determinar con exactitud la cantidad de ácido presente en un medio.

7.4.2. Preparación de filmes con las partículas modificadas.

Las partículas comerciales y las funcionalizadas se utilizaron como carga al 0.5% en peso en matrices poliméricas acrílicas. Para ello, se prepararon formulaciones de 1 g de mezcla HEMA/HDDMA (7:3), Irgacure 651 (10 mg, 1% p/p) y 5 mg de las partículas (SiO_2 ó DANS- SiO_2), que se fotopolimerizaron de la manera ya descrita para filmes acrílicos, obteniendo filmes transparentes y flexibles.

La morfología de estos filmes cargados con partículas de sílice se estudió con un microscopio electrónico de barrido.

En las Figuras 7.24 y 7.25 se muestran las micrografías de STEM a distintos aumentos, tomadas para las partículas comerciales (SiO_2) y funcionalizadas (DANS- SiO_2) cuando éstas han sido incluidas en filmes acrílicos.

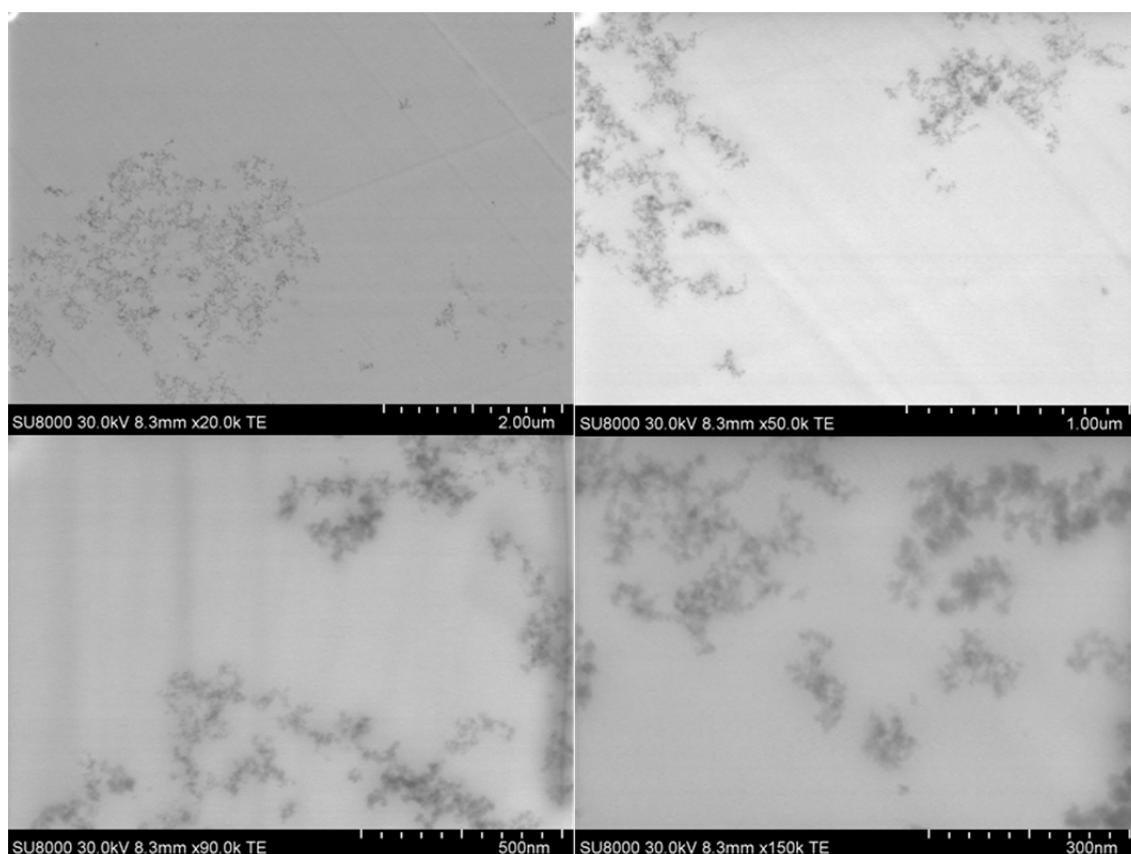


Figura 7.24. Micrografías de STEM tomadas para SiO_2 fumed al 0.5% en peso, en un filme HEMA/HDDMA 7:3 con I651 al 1% en peso.

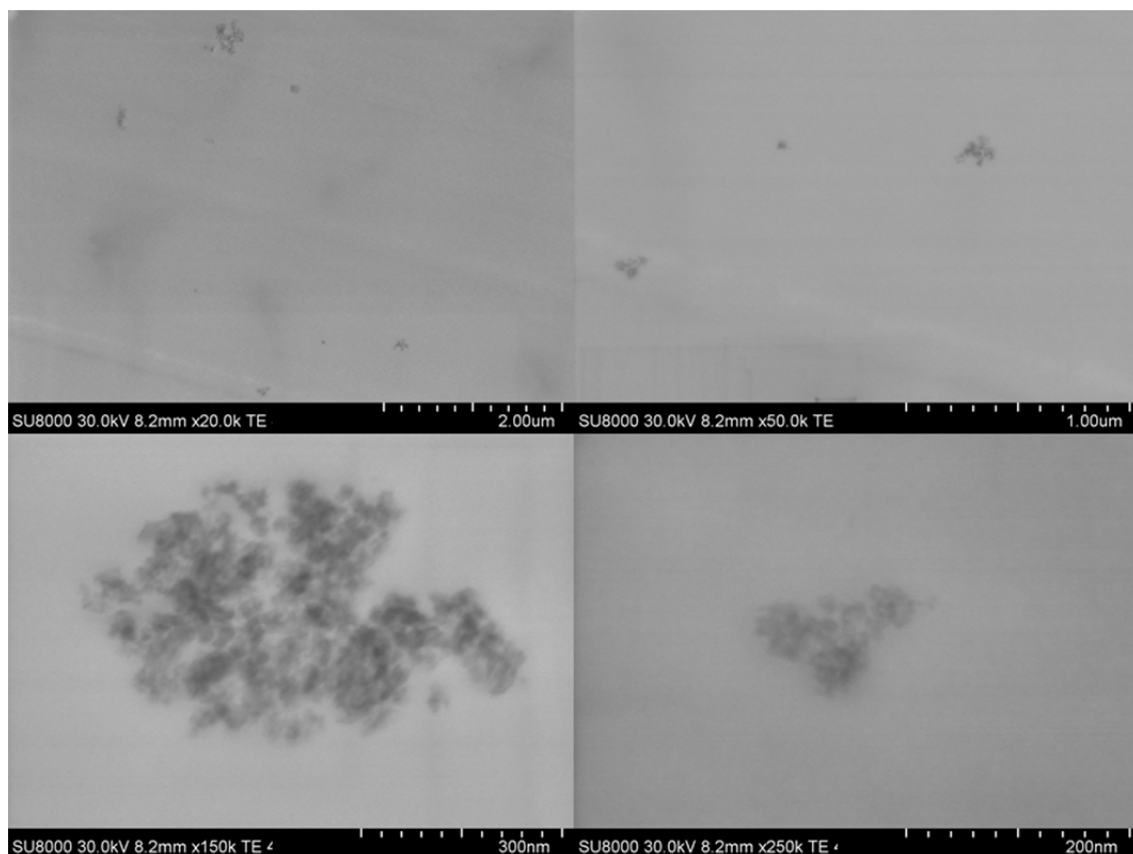


Figura 7.25. Micrografías de STEM tomadas para DANS-SiO₂ al 0.5% en peso, en un filme HEMA/HDDMA 7:3 con I651 al 1% en peso.

En ambos casos se observa una buena dispersión de las nanopartículas. Se aprecia que la distribución de partículas es menos homogénea en el caso de las modificadas, obteniéndose poblaciones con mayor grado de agregación.

CAPÍTULO 8

APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN RESINAS COMPUESTAS

8. APLICACIÓN DE LAS SONDAS FLUORESCENTES COMO SENSORES EN RESINAS COMPUESTAS.

8.1. INTRODUCCIÓN.

Los materiales compuestos son sistemas heterofásicos de al menos dos materiales químicamente diferentes, cuya combinación produce mejores propiedades que las de sus sustituyentes por separado.

Existe un amplio abanico de materiales compuestos en función de sus componentes y/o aplicación final. En el campo de los adhesivos y restauraciones dentales, las resinas compuestas son materiales especialmente interesantes y, desde el inicio de su uso en la década de los 40 por Ray L. Bowen, se han ido desarrollando nuevas y mejores formulaciones compuestas de matriz polimérica altamente reticulada. Es requisito indispensable para estos materiales que proporcionen resistencia mecánica a la abrasión a la rotura y al desgaste, que no se hinchen ni se ensucien.¹ Las matrices poliméricas más comúnmente utilizadas en la práctica son mezclas de monómeros acrílicos.

La fotopolimerización es la técnica preferida para el curado de estos materiales, ya que, además de transcurrir a temperatura ambiente y dentro de los tiempos requeridos para su aplicación en consulta, permite controlar el proceso de reacción, es eficiente y versátil. Pero también tiene ciertas desventajas, siendo la más importante el fenómeno de contracción del material inherente a la reacción de polimerización, que genera fuerzas en la resina y tensiones en las superficies a las que está adherida.²

¹ Rodríguez, D. R.; Pereira, N. A., Evolución y tendencias actuales en resinas compuestas. *Acta Odontológica* **2008**, 46 (3), 1-18.

² Giachetti, L.; Russo, D. S.; Bambi, C.; Grandini, R., A review of polymerization shrinkage stress: current techniques for posterior direct resin restorations. *Journal of Contemporary Dental Practice* **2006**, 7, 79-88.

Entre las tentativas para evitar los efectos derivados de la contracción de polimerización se encuentran el desarrollo de nuevos monómeros, la modificación del proceso de curado o la incorporación de cargas o nanopartículas prepolimerizadas a la resina.

El grupo dirigido por J. Stansbury ha estudiado durante los últimos años, en una de sus líneas de investigación, las mejoras de los sistemas de restauraciones dentales por incorporación de nanogeles como carga.

Los nanogeles son partículas poliméricas reticuladas con forma globular y dimensiones de 10 a 100 nm.³ Se sintetizan a través de una ruta versátil, a partir de composiciones de monómero muy diversas, que permite ajustar su carácter hidrófobo y el grado de funcionalización, siempre manteniendo la formación de la nanopartícula discreta, evitando la macrogelación.⁴

La incorporación de partículas de nanogel como carga en la resina dental reduce la contracción y la tensión de polimerización, aunque algunas cuestiones referidas al proceso de polimerización no han sido respondidas todavía. Es particularmente importante conocer si la estructura del nanogel afecta de manera diferente al desarrollo de la red local en comparación con la matriz externa o si el grado de polimerización es el mismo dentro y fuera de los nanogeles. Y es en este punto donde la incorporación de sondas puede jugar un papel importante, ofreciendo nueva información para ayudar a entender algunos de los procesos que se dan dentro del sistema.

En este Trabajo se han sintetizado y caracterizado nanogeles acrílicos, derivados de uretano e isobornilo para utilizarlos como carga en resinas acrílicas. Se han utilizado sondas derivadas de dansilo como sensores fluorescentes en las reacciones de fotopolimerización de estas formulaciones,

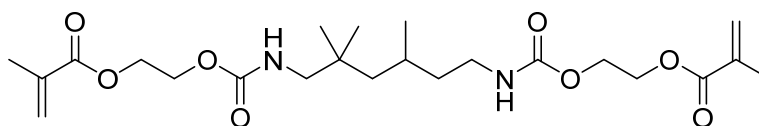
³ Graham, N. B.; Cameron, A., Nanogels and microgels: The new polymeric materials playground. *Pure and Applied Chemistry* **1998**, 70 (6), 1271-1275.

⁴ Moraes, R. R.; Garcia, J. W.; Barros, M. D.; Lewis, S. H.; Pfeifer, C. S.; Liu, J.; Stansbury, J. W., Control of polymerization shrinkage and stress in nanogel-modified monomer and composite materials. *Dental Materials* **2011**, 27, 509-519.

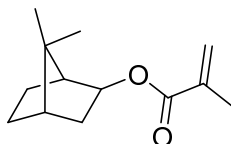
para conocer el comportamiento dentro y fuera de la partícula de nanogel a lo largo de todo el intervalo de conversiones.

8.2. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOGELES.

Los nanogeles (Ng) se sintetizaron tal y como se describe en la Parte Experimental, bajo las condiciones descritas en la bibliografía.⁵ Se eligieron dimetacrilato de uretano (UDMA) como el monómero de cadena larga, flexible y difuncional, y metacrilato de isobornilo (IBMA) por su grado de funcionalidad más bajo pero con elevada masa y rigidez estructural, lo que disminuirá los valores de contracción en el material final. Las estructuras de los monómeros utilizados se muestran en la Figura 8.1.



Dimetacrilato de uretano (UDMA)



Metacrilato de isobornilo (IBMA)

Figura 8.1. Estructuras moleculares de los monómeros metacrílicos utilizados en la síntesis de los nanogeles.

Además, se preparó un tipo de nanogel con cromóforo anclado en su estructura (NgDANS). Para ello, se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero incluyendo además en la mezcla original el cromóforo DANSMA en una concentración del 0.03% molar con respecto al contenido de monómeros. Para el seguimiento por fluorescencia sería suficiente con una concentración del 0.003%, pero el cromóforo se ha incluido en el nanogel con una concentración

⁵ Liu, J.; Howard, G. D.; Lewis, S. H.; Barros, M. D.; Stansbury, J. W., A study of shrinkage stress reduction and mechanical properties of nanogel-modified resin systems. *European Polymer Journal* **2012**, 48, 1819-1228.

10 veces superior para compensar la dilución que sufre al mezclarlo con la resina (en 5-20%). En la Figura 8.2 se muestra la síntesis del nanogel etiquetado con el cromóforo.

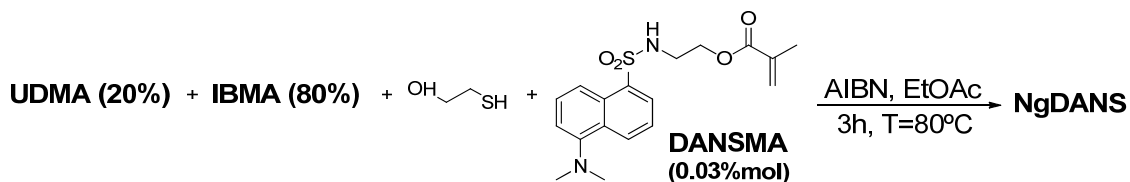


Figura 8.2. Esquema de reacción para la síntesis del nanogel con el cromóforo DANSMA químicamente anclado en su estructura.

Después de la reacción, las muestras se analizaron por espectroscopia FTIR, alcanzando una conversión del 69% para Ng y del 60% para NgDANS.

La caracterización de ¹H-RMN de los nanogeles resultantes demostró que las composiciones de los copolímeros eran similares a las de la relación de monómeros en la alimentación.

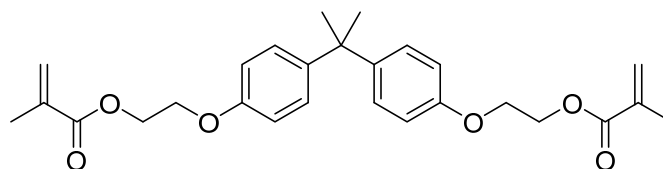
El análisis de GPC (Tabla 8.1) demostró que ambos nanogeles presentaban distribuciones relativamente anchas de alto peso molecular. Los valores de polidispersidad fueron elevados acorde a estructuras poliméricas altamente ramificadas. Los nanogeles sintetizados presentaron valores de radio hidrodinámico en torno a los 7 nm y muy similares entre ambos nanogeles.

Tabla 8.1. Conversión, pesos moleculares y promedios en número y peso (M_n , M_w), índice de polidispersidad (M_w/M_n) y radio hidrodinámico (R_h) de los nanogeles sintetizados.

	Conv. (%)	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	M_w/M_n	R_h (nm)
Ng	69	32000	107900	3.37	6.59
NgDANS	60	28200	138600	4.91	7.22

8.3. FORMULACIÓN DE RESINAS.

El monómero dimetacrilato de bisfenol-A etoxilado (BisEMA) se eligió como resina fotopolimerizable, ampliamente usado en aplicaciones dentales por su resistencia química y al agua, flexibilidad, adherencia y baja contracción. Su estructura se muestra en la Figura 8.3.⁶

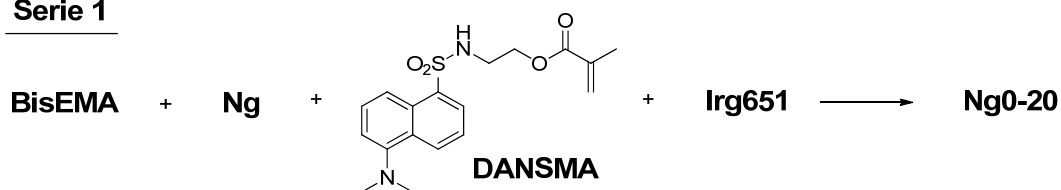


Dimetacrilato de bisfenol-A etoxilado (BisEMA)

Figura 8.3. Estructura molecular del monómeros metacrílicos utilizado como resina.

Se prepararon dos series diferentes de muestras, incluyendo la etiqueta fluorescente en la resina polimerizable (Serie 1) o añadiendo el nanogel etiquetado a la resina sin etiquetar (Serie 2). A la resina BisEMA se le añadieron diferentes cantidades de nanogel (5, 10, 15 y 20% en peso). A todas las muestras se les añadió Irgacure 651 (0.1% en peso con respecto a la resina). Las muestras se agitaron mecánicamente durante 2-48 h dependiendo del contenido en nanogel, hasta la completa disolución de los nanogeles resultando muestras completamente homogéneas y transparentes.

Serie 1



Serie 2



Figura 8.4. Esquema de los dos tipos de formulaciones preparadas (Serie 1 y Serie 2).

Las composiciones finales de las diferentes muestras y sus correspondientes referencias están resumidas en la Tabla 8.2.

⁶ Stansbury, J. W., Dimethacrylate network formation and polymer property evolution as determined by the selection of monomers and curing conditions. *Dental Materials* **2012**, 28, 13-22.

Tabla 8.2. Formulación de las resinas. En todas las mezclas se añadió *Irgacure 651* (0.1% peso). Como experimento control se utilizó BisEMA sin carga (NgDANS0).

	Referencia	BisEMA, wt%	NgDANS, wt%	Ng, wt%	DANS, wt%
Serie 1	Ng0	100	0	0	0.01
	Ng5	95	0	5	0.01
	Ng10	90	0	10	0.01
	Ng15	85	0	15	0.01
	Ng20	80	0	20	0.01
Serie 2	NgDANS0	100	0	0	0
	NgDANS5	95	5	0	0
	NgDANS10	90	10	0	0
	NgDANS15	85	15	0	0
	NgDANS20	80	20	0	0

En estas mezclas, las partículas de nanogel se hinchan con la resina, por lo que la resina polimeriza también dentro del nanogel e incluso con los grupos funcionales del nanogel que hubieran quedado sin reaccionar (Figura 8.5), formando una red interpenetrada.

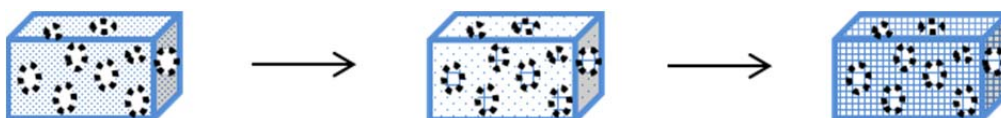


Figura 8.5. Representación gráfica de los sistemas compuestos por resina y nanogel antes y después de la fotopolimerización.

Así, las diferentes formulaciones listadas en la Tabla 8.2 podrían esquematizarse en 4 situaciones (Figura 8.6), de la siguiente manera:

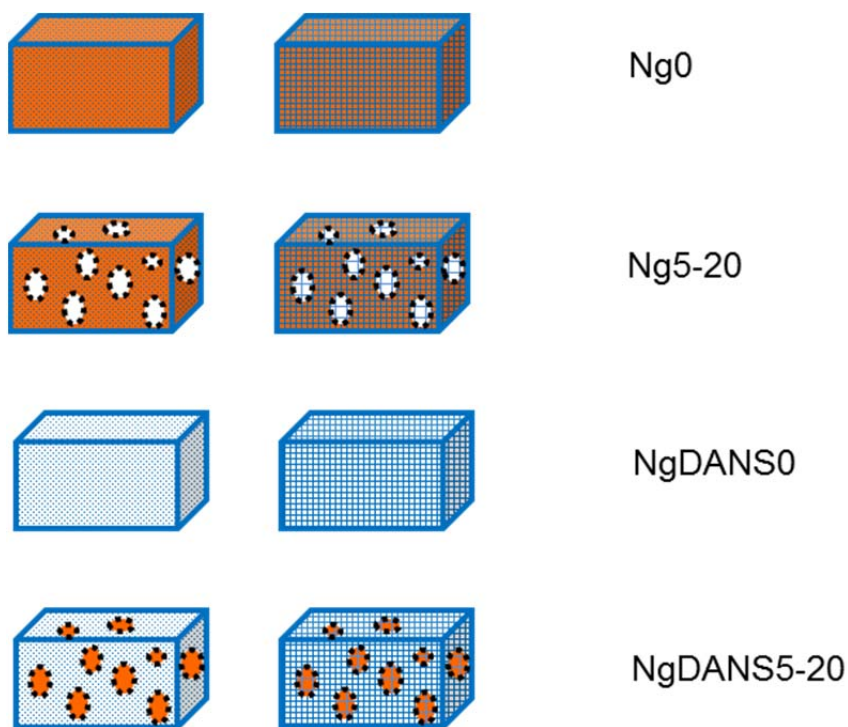


Figura 8.6. Representación gráfica de los diferentes sistemas estudiados en función de la composición. El color azul representa la resina y el naranja el cromóforo DANSMA, que se encuentra o bien en la resina (Ng0 o Ng5-20) o bien anclado en el nanogel (NgDANS5-20).

La adición de nanogel a las resinas aumenta mucho su viscosidad inicial. Formulaciones de TEGDMA cargadas hasta el 50% con nanogeles similares alcanzan 100 Pa·s,⁵ mientras que al utilizar el monómero BisGMA, diseñado específicamente para su uso en materiales dentales las viscosidades iniciales pueden alcanzar valores entre los 700 y 1300 Pa·s.⁷ Los valores de la viscosidad antes de la polimerización de las resinas estudiadas se muestran en la (Figura 8.7).

⁷ Trujillo-Lemon, M.; Jones, M. S.; Stansbury, J. W., Hydrogen bonding interactions in methacrylate monomers and polymers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2007**, 83 (3), 734-746.

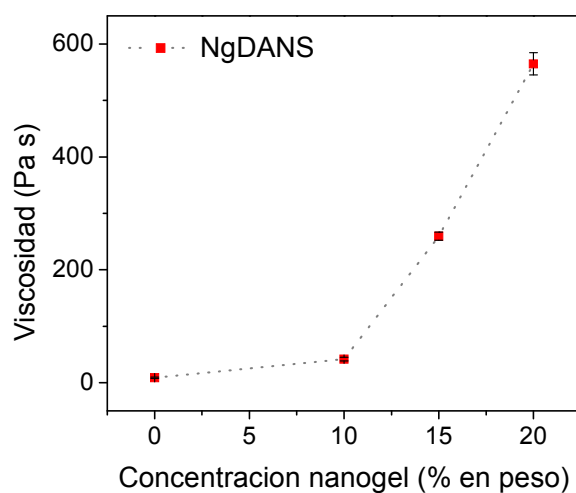


Figura 8.7. Valores iniciales de viscosidad para las formulaciones NgDANS0-20, antes de la polimerización.

Con la adición de nanogel, la viscosidad se incrementa desde 9 Pa·s para la resina BisEMA hasta casi 600 Pa·s para la formulación del 20% en nanogel.

Estos valores son muy elevados y hacen muy difícil el mezclado homogéneo de formulaciones con un porcentaje de nanogel mayor que el 20%, por lo que en este estudio nos hemos limitado a este contenido como límite superior.

Los dos tipos de formulaciones, Ng y NgDANS, presentaron viscosidades similares entre sí en función del contenido en nanogel, debido a la similitud en los valores de R_h entre los nanogeles sintetizados.

8.4. FOTOPOLIMERIZACIÓN DE LAS RESINAS, ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES Y SEGUIMIENTO DEL PROCESO POR FLUORESCENCIA.

Para el estudio completo de la reacción de fotopolimerización de estas resinas se han utilizado tres sistemas instrumentales diferentes, que se describen con detalle en la Parte Experimental.

En primer lugar se determinó la cinética de la reacción y la contracción volumétrica.

Como se detalla en la Parte Experimental, las muestras se irradiaron con una lámpara UV-Vis ($\lambda=365\pm10$ nm) a una intensidad de 25 mW/cm^2 durante 10 min. La reacción de polimerización se siguió por espectroscopia IR midiendo el descenso del área de la banda de los grupos metacrílicos, centrada en 6165 cm^{-1} .

Las **cinéticas de polimerización** se muestran en la Figura 8.8 para las formulaciones cargadas con diferente contenido de nanogel etiquetado con DANSMA.

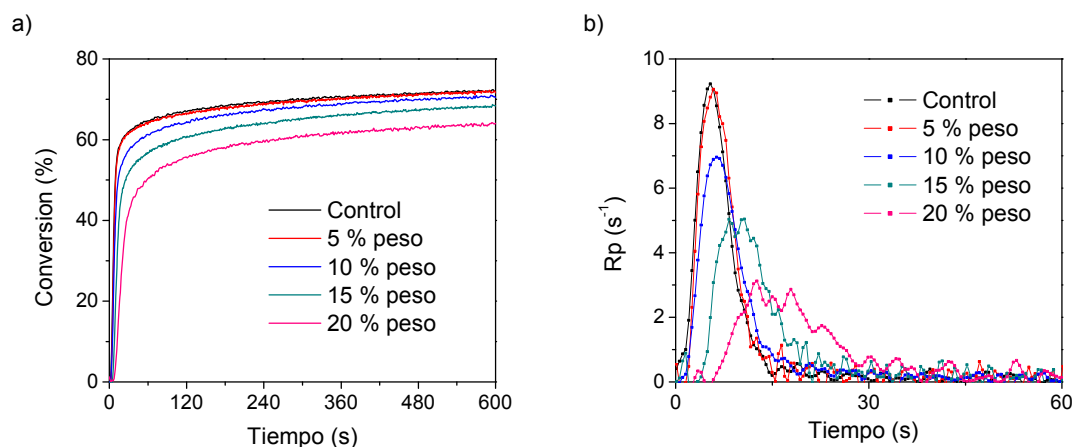


Figura 8.8. a) Cinéticas de polimerización y b) velocidades instantáneas de polimerización de las formulaciones correspondientes a la Serie 2 (NgDANS0-20).

El perfil cinético de las reacciones estudiadas es el esperado, con un periodo de autoaceleración inicial y una conversión alcanzada inferior al 100%.

A medida que aumenta el contenido en nanogel la conversión máxima alcanzada disminuye. Aunque no es apreciable cuando el contenido en nanogel

es bajo (del 5 y 10%), se observa a medida que aumenta la cantidad de nanogel, disminuyendo desde el 70% de conversión hasta el 63% para la muestra de más alto contenido.

El contenido en nanogel afecta también a la velocidad inicial de polimerización, que disminuye, y a la velocidad de polimerización máxima, que se alcanza más tarde, al aumentar el contenido en nanogel, ya que su presencia restringe la movilidad de la resina en el entorno del mismo impidiendo la reacción de polimerización, lo que afecta tanto a la velocidad como a la conversión final alcanzada.

Simultáneamente a estas medidas, se midió la **contracción volumétrica** del sistema durante la reacción de polimerización, para lo cual se utilizó un *linometer*, cuyo fundamento teórico y acoplamiento al sistema de irradiación se explica en el Apartado 4.2.14.

Las medidas se realizaron por triplicado para cada formulación. En la Tabla 8.3 se recogen los resultados de las medias y sus desviaciones estándar a conversión final para los diferentes porcentajes en peso de nanogel.

Tabla 8.3. Valores medios de contracción volumétrica de polimerización (%) para las formulaciones de resinas preparadas. Valores medidos al término de la reacción.

Formulación de resina	Nanogel (% peso)	Contracción volumétrica (%)
Ng0	0%	4.82 ± 0.17
NgDANS0		5.01 ± 0.23
Ng5	5%	-
NgDANS5		4.38 ± 0.11
Ng10	10%	3.36 ± 0.28
NgDANS10		3.80 ± 0.17

Ng15	15%	3.34 ± 0.23
NgDANS15		3.50 ± 0.31
Ng20	20%	3.16 ± 0.35
NgDANS20		3.24 ± 0.04

Como se puede ver en la Tabla 8.3 y en la Figura 8.9, al ir añadiendo cantidades crecientes de nanogel a la resina, la contracción disminuye de manera lineal con respecto al contenido en nanogel.

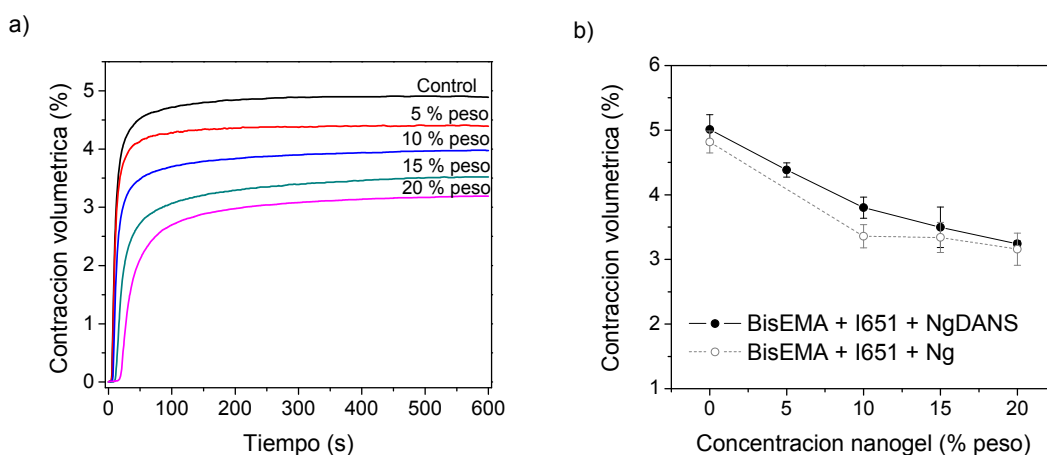


Figura 8.9. Representación de la contracción volumétrica de polimerización con respecto (a) al tiempo de irradiación y (b) al contenido en nanogel (al término de la polimerización).

Se observa una ligera diferencia entre las formulaciones con sonda en el nanogel (NgDANS) y en la resina (Ng), presentando estas últimas valores ligeramente menores pero no se consideran significativos. En la resina cargada con nanogel al 20% (NgDANS20) la contracción se reduce en aproximadamente un 35% con respecto al valor de la resina sin carga, con valores finales en torno al 3%.

Esta contracción es apreciablemente menor que la contracción típica en un sistema acrílico en ausencia de nanogel, que está entre el 8-10% de contracción.

Aunque los perfiles conversi3n-tiempo y contracci3n-tiempo parecen id3nticos, esto no es as3, y la relaci3n entre ambos no es lineal, como se muestra en la Figura 8.10.

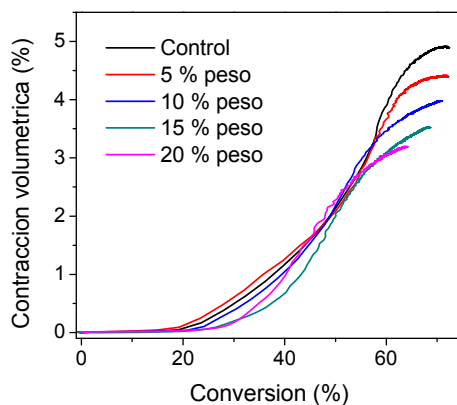


Figura 8.10. Representaci3n de la contracci3n volum3trica de polimerizaci3n con respecto a la conversi3n final alcanzada.

La variaci3n de la contracci3n frente a la conversi3n muestra inicialmente una contracci3n muy pequeña hasta valores en torno al 20% de conversi3n, despu3s una progresi3n relativamente uniforme, pero no lineal, en la que el material sufre el mayor porcentaje de contracci3n, y finalmente, para valores de conversi3n por encima del 60%, la contracci3n pr3cticamente no aumenta. En la etapa intermedia, el comportamiento de los nanogeles con menor contenido en carga es muy similar al de la resina control. Sin embargo, para contenidos del 15 y 20% de nanogel se aprecia adem3s un retraso en el comienzo de la contracci3n, que sucede a conversiones por encima del 30%. La contracci3n volum3trica tiene lugar mayoritariamente durante el periodo de autoaceleraci3n y las formulaciones con mayor contenido en nanogel sufren una contracci3n volum3trica menor que la resina sin cargar, lo que demuestra los beneficios de incorporar nanogel en la resina.

Estas contracciones observadas durante la polimerización inducen fuerzas de tracción y tensiones sobre el material al que estén adheridas.

La contracción de polimerización depende de la concentración inicial de grupos reactivos y de la conversión alcanzada.⁸ Asimismo, la tensión de polimerización está relacionada con el módulo del polímero y con la contracción de polimerización,⁹ de manera que si se reduce la contracción de polimerización es de esperar que se obtenga una reducción proporcional en la tensión de polimerización.

Teniendo en cuenta la aplicación final de estos materiales en restauración dental, que implican la unión de interfases, es de gran importancia reducir la tensión de contracción desarrollada durante la polimerización.

Por tanto, también se midió la **tensión de polimerización** en estos sistemas.

Las medidas de tensión de polimerización durante la fotopolimerización se realizaron utilizando un tensómetro acoplado al sistema de irradiación y al IR, tal y como se describe en la Parte Experimental (Apartado 3.2.13).

En la Figura 8.11 se muestran, a modo de ejemplo, los resultados para las formulaciones sin carga y cargadas al 5% y 10% en peso con nanogel.

⁸ (a) Stansbury, J. W.; Trujillo-Lemon, M.; Lu, H.; Ding, X.; Lin, Y.; Ge, J., Conversion-dependent shrinkage stress and strain in dental resins and composites. *Dental Materials* **2005**, 21 (1), 56-67, (b) Dewaele, M.; Truffier-Boutry, D.; Devaux, J.; Leloup, G., Volume contraction in photocured dental resins: the shrinkage-conversion relationship revisited. *Dental Materials* **2006**, 22 (4), 359-365.

⁹ Braga, R. R.; Ferracane, J. L., Alternatives in polymerization contraction stress management. *Critical reviews in oral biology and medicine* **2004**, 15 (3), 176-184.

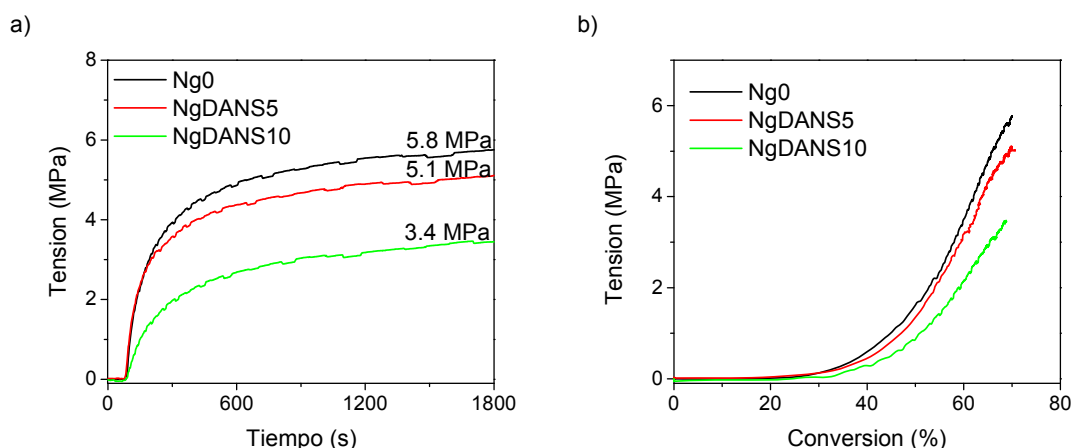


Figura 8.11. Perfiles de tensión de polimerización para el monómero BisEMA y las formulaciones con un contenido en nanogel del 5 y 10%.

La incorporación del 5 o 10% en peso de nanogel a la resina conduce, una vez completada la polimerización, a materiales con una menor tensión de polimerización, aproximadamente un 12 y 41% inferior, respectivamente, al material sin cargar. En estos bajos contenidos de nanogel, esta reducción de tensión se consigue sin afectar a la conversión del polímero formado.

No se ha podido correlacionar de manera directa el comportamiento de la tensión de polimerización con la contracción del sistema, ya que no se pueden medir ambos parámetros simultáneamente, aunque de la Figura 8.11.b se puede asumir que la tensión de polimerización comienza a aumentar cuando lo hace la contracción del sistema, como cabría esperar.

No fue posible medir las formulaciones con más contenido en nanogel, pues el montaje no permitió realizar las medidas hasta el final del experimento. Aunque ya en las muestras estudiadas se comprueba que la concentración de nanogel juega un papel importante en el retraso de la generación de tensión y en el valor final de la misma.

Finalmente, para completar el estudio de estos sistemas, durante el curado UV de las resinas se midieron simultáneamente el **grado de polimerización** del sistema, el **módulo de almacenamiento** del material y la **emisión de fluorescencia** de la etiqueta fluorescente, utilizando un acoplamiento diferente a los anteriores, descrito en la Parte Experimental (Apartado 3.2.12).

En los experimentos que se describen a continuación, las muestras se irradiaron con una lámpara UV-Vis ($\lambda=365\pm10$ nm) a una intensidad de 1.0 mW/cm² durante 30 min.

Las dos series de formulaciones (con la etiqueta fluorescente en el nanogel o en la matriz) exhibieron resultados iguales en lo que respecta a la variación de las propiedades mecánicas a lo largo de la reacción de fotopolimerización. En la Figura 8.12 se muestran sólo los resultados para la serie con nanogeles etiquetados.

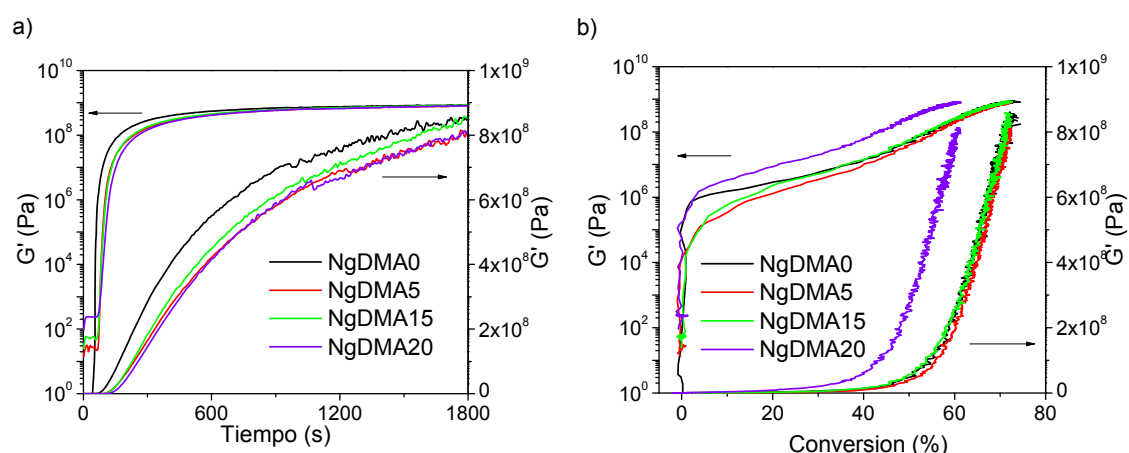


Figura 8.12. Evolución del módulo de almacenamiento (G') a lo largo de la reacción de fotopolimerización de las resinas cargadas al 0, 5, 15 y 20% en nanogel frente a) al tiempo de irradiación, b) a la conversión alcanzada. Ambas figuras muestran la variación de G' en escala logarítmica (eje izquierdo) y lineal (eje derecho).

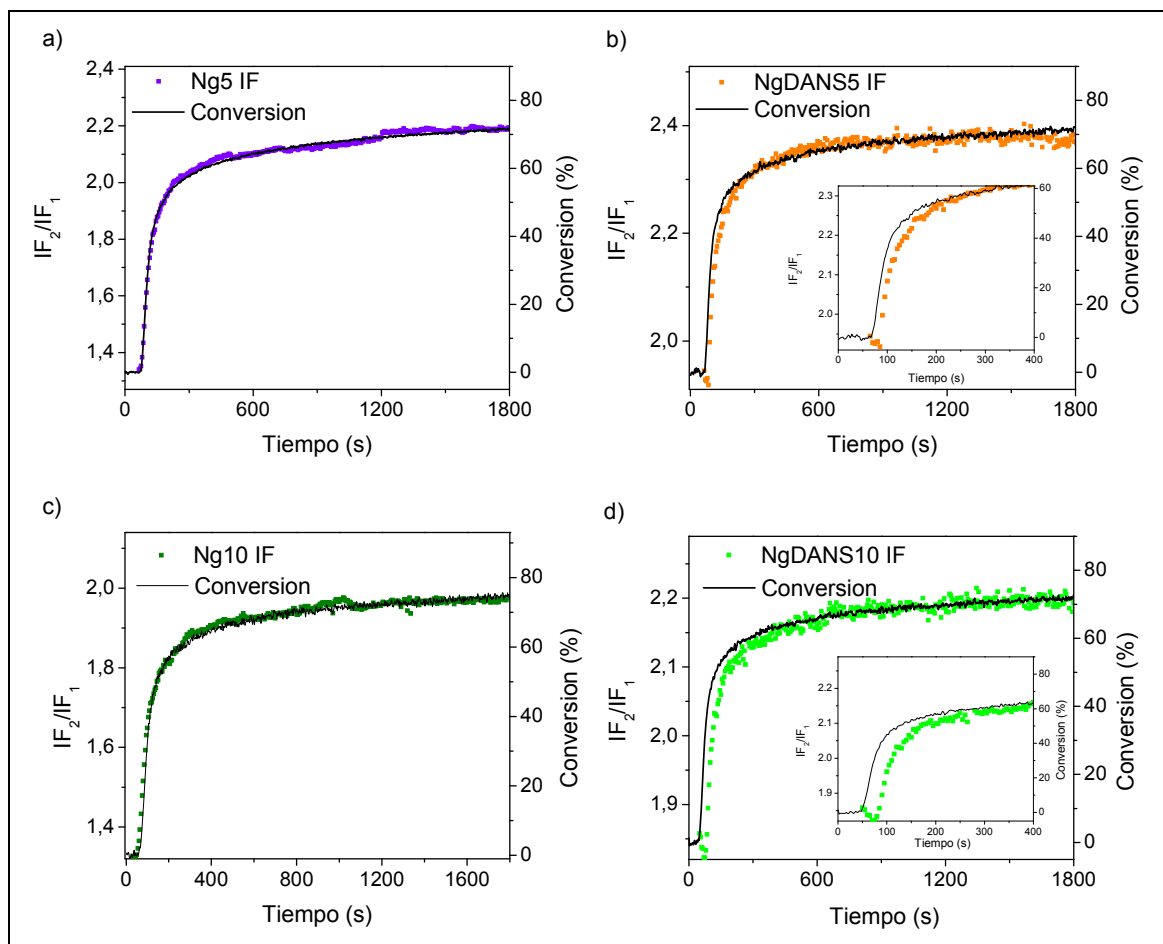
El módulo del sistema antes de la irradiación aumenta ligeramente a medida que aumenta el contenido de nanogel en la muestra.

Al final del experimento, todas las muestras alcanzaron valores máximos del módulo de almacenamiento muy similares, entre 0.80-0.85 GPa.

El comportamiento con respecto a la conversión (Figura 8.12.b) fue similar en todos los casos. En escala logarítmica se aprecia mejor el comportamiento de la muestra a bajas conversiones, y se observa un aumento inicial del módulo de almacenamiento a medida que avanza la gelificación, antes del 5% de conversión. En el eje lineal se muestra más claramente el aumento dramático del módulo durante el final de la irradiación, que se corresponde con la vitrificación del sistema.

El acoplamiento del fotorreómetro, el IR y el sistema de detección de fluorescencia permitió estudiar simultáneamente el módulo de almacenamiento, la cinética de polimerización y los cambios en el espectro de fluorescencia de las resinas cargadas con la sonda en la resina (Ng) y en el interior del nanogel (NgDANS). Los cambios en la banda de emisión se han analizado empleando la razón de intensidades a dos longitudes de onda (IF_2/IF_1).

En la Figura 8.13 se muestran, a modo de ejemplo, las cinéticas de polimerización y la evolución de la emisión de fluorescencia con el tiempo de reacción para las formulaciones con un contenido en nanogel del 5, 10, 15 y 20%.



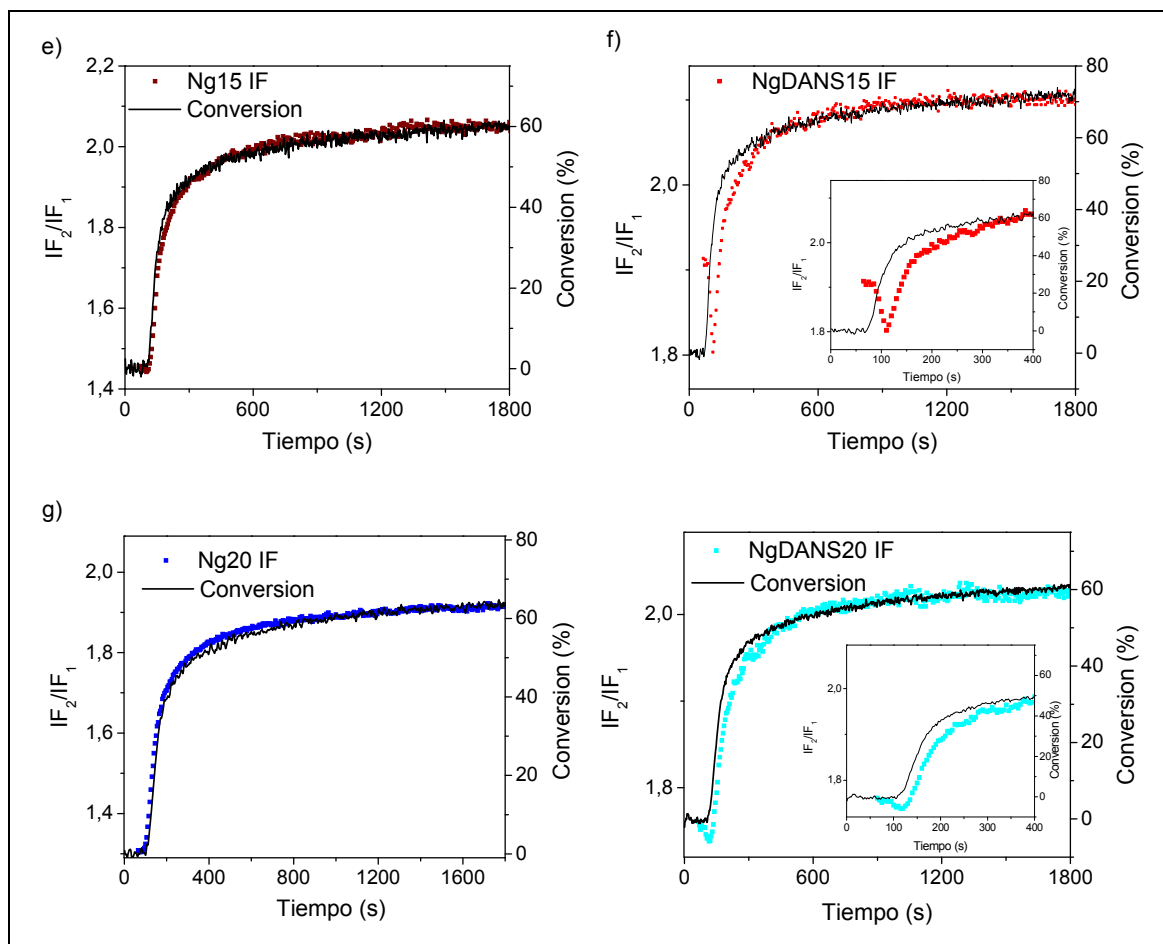


Figura 8.13. Perfiles cinéticos de polimerización y evolución de la emisión de fluorescencia (λ_{em} (1) = 545 nm, λ_{em} (2) = 495 nm) a lo largo del tiempo de irradiación para las formulaciones con un contenido en nanogel del 5, 10, 15 y 20%.

Mediante FTIR no se encontraron diferencias apreciables en las cinéticas de polimerización entre los sistemas cargados con el mismo contenido en nanogel. Sin embargo, si se comparan los perfiles cinéticos obtenidos a partir de la emisión de fluorescencia, se aprecian dos comportamientos diferentes.

En primer lugar, se observa un mayor valor de IF_1/IF_2 dentro del nanogel antes de comenzar la irradiación, lo que puede ser debido bien a una mayor rigidez dentro del nanogel, o bien a la pérdida de movilidad de la sonda por estar anclada.

Cuando el sensor se encuentra en el seno de la resina (Figuras de la izquierda), los perfiles de calorimetría y fluorescencia son superponibles durante toda la reacción. Sin embargo, cuando el sensor está anclado al nanogel (Figura de la derecha), los perfiles cinéticos obtenidos por FTIR y fluorescencia son diferentes. Al inicio de la fotopolimerización, en todos los

casos, la relación de intensidades disminuye, lo que aparentemente está indicando una disminución inicial de la rigidez en el interior de las partículas de nanogel, para lo cual no tenemos explicación. Durante la autoaceleración (ampliado en la figura), se observa un retardo en la reacción en el interior del nanogel, así como una velocidad de polimerización más lenta, hasta un 40-50% de conversión de dobles enlaces, dependiendo de la carga de nanogel. A conversiones elevadas, el comportamiento es similar dentro y fuera del nanogel. Este comportamiento es más acusado cuando el contenido en nanogel es mayor.

Cuando se comparan los valores del módulo G' con la variación de fluorescencia del sistema (Figura 8.14) se aprecian comportamientos paralelos dentro y fuera del nanogel, pero no iguales.

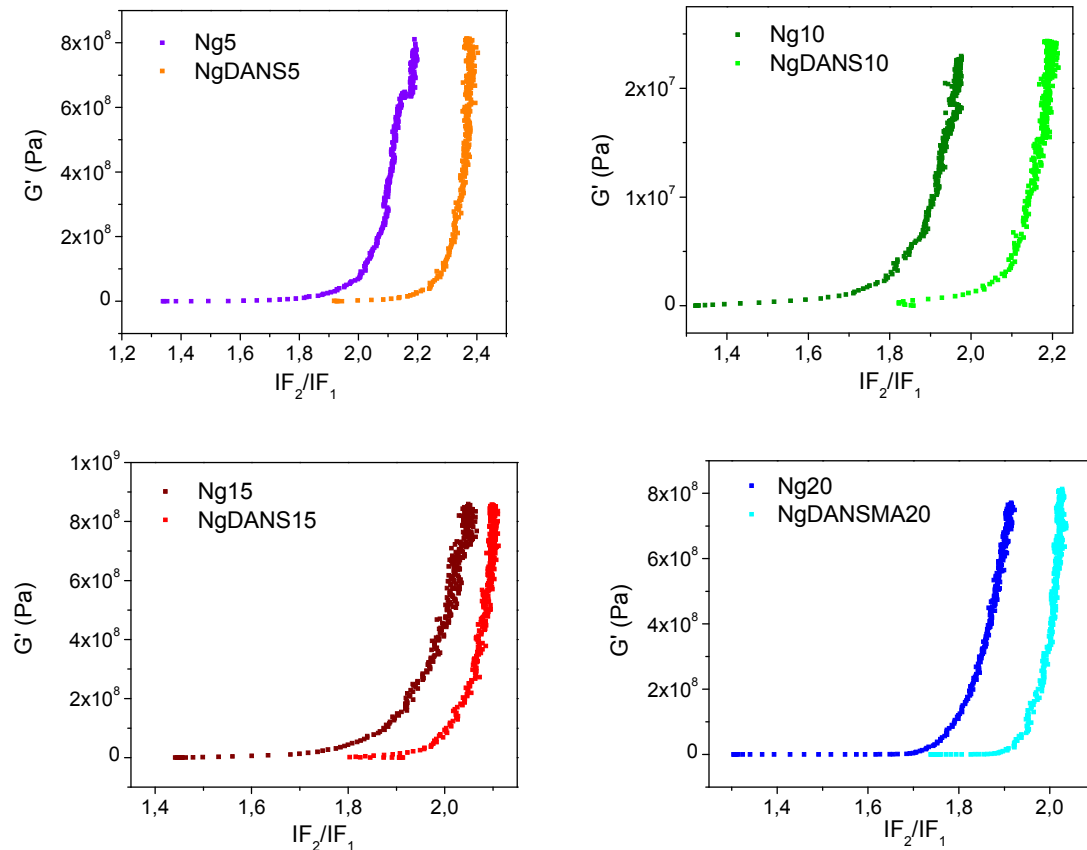


Figura 8.14. Representación del módulo frente a la relación de intensidades de fluorescencia ($\lambda_{em}(1) = 545$ nm, $\lambda_{em}(2) = 495$ nm) a lo largo del tiempo de irradiación para las formulaciones con un contenido en nanogel del 5, 10, 15 y 20%.

Como ya se ha comentado, se observa un valor de fluorescencia inicial más elevado dentro del nanogel para todas las formulaciones.

A altas conversiones, para ambas representaciones, los comportamientos son idénticos dentro y fuera del nanogel.

Sin embargo, a bajas conversiones, se observa un menor incremento de la fluorescencia dentro del nanogel. Este hecho, unido al diferente comportamiento cinético que se observa en este intervalo de reacción, hace pensar que las diferencias entre los sistemas con y sin nanogel se producen fundamentalmente en esta etapa.

Estos resultados son muy prometedores ya que, dado que las técnicas convencionales para estudiar el proceso de polimerización generan una información macroscópica del sistema, el marcaje con sondas fluorescentes en las diferentes fases de un material compuesto permitirá estudiar los procesos que tienen lugar en cada una de ellas.

CAPÍTULO 9

RESÚMEN Y CONCLUSIONES

9. RESÚMEN Y CONCLUSIONES.

El trabajo presentado en los Capítulos anteriores de esta Memoria se puede resumir en los siguientes puntos:

- I. Se han sintetizado, de manera sencilla y con altos rendimientos, una serie de cromóforos de bajo peso molecular y polímeros hiperramificados fluorescentes derivados de dansilo, naftalimida y acridina.
- II. Se ha realizado la caracterización química y fotofísica de todas las sondas sintetizadas, en un amplio rango de disolventes, no encontrándose diferencias entre el comportamiento de los cromóforos de bajo peso molecular y sus homólogos hiperramificados.
- III. El estudio fotofísico reveló que las sondas derivadas de dansilo y naftalimida presentan un elevado solvatocromismo positivo y una alta sensibilidad a los cambios de polaridad en su entorno.
- IV. Las sondas derivadas de naftalimida y acridina han resultado ser sensibles a la presencia de especies del tipo A^{n+} (cationes metálicos divalentes y protones) en disolución, con concentraciones umbral de 80 ppb.
- V. Las sondas derivadas de dansilo fueron de utilidad para el seguimiento *in situ* y en tiempo real de reacciones de polimerización radical fotoiniciadas de monómeros metacrílicos, proporcionando información sobre la rigidez del medio y la cinética de reacción.
- VI. Se han preparado sensores fluorescentes incluyendo los cromóforos y los HBPs funcionalizados en filmes poliméricos mediante dopaje y anclaje químico.
- VII. Los HBPs fluorescentes no se extrajeron de los filmes poliméricos a medio y largo plazo, no así las sondas monocromofóricas, siendo el anclaje químico, en este caso, una alternativa al dopaje.
- VIII. Los filmes sensores han permitido, dependiendo del cromóforo utilizado:

- a. Estimar coeficientes de difusión por fluorescencia.
 - b. Determinar la presencia de cationes metálicos en disolución.
 - c. Detectar vapores ácidos.
- IX. Se han modificado superficialmente nanopartículas de sílice con las sondas monocromofóricas sintetizadas. Estas nanopartículas han resultado ser sensibles a la polaridad del medio y a la presencia de cationes metálicos divalentes en disolución.
- X. Se han sintetizado y caracterizado nanogeles fluorescentes que han permitido estudiar *in situ* y en tiempo real cómo las cinéticas de polimerización de resinas metacrílicas se ven afectadas localmente por la presencia del nanogel.

De lo cual se desprenden las siguientes conclusiones:

- 1.- La funcionalización de polímeros hiperramificados con grupos fluorescentes en la periferia resulta ser una vía útil de preparar sensores fluorescentes de alta eficiencia sensibles a diferentes estímulos.
- 2.- La versatilidad de la estrategia sintética seguida permite obtener sensores solubles en diversos medios, así como su anclaje a diferentes sustratos (nanogeles, resinas epoxídicas, nanopartículas) o el dopado de sistemas poliméricos de variada naturaleza.
- 3.- La ausencia de reacciones de extracción en medios poliméricos hace que los sensores hiperramificados tengan propiedades superiores a sus homólogos de bajo peso molecular y permiten obtener sensores con utilidad práctica.
- 4.- La ausencia de reacciones de desactivación entre cromóforos hace que los sensores hiperramificados tengan propiedades superiores a sus homólogos de naturaleza dendrítica.

